

**„Experimentelle Untersuchungen zum Einfluß der Ischämiezeit sowie moderner
Konservierungslösungen in der Lungentransplantation“**

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Thomas Pech

geboren am 29.12.1975 in Reutlingen

07.12.2004

Erster Gutachter:	Herr Prof. Dr. T. Wahlers (Jena)
Zweiter Gutachter:	Herr Prof. Dr. H.-G. Fieguth (Frankfurt/Main)
Dritter Gutachter:	Herr PD Dr. T. Uhlig (Jena)

Tag der öffentlichen Verteidigung: 07.12.2004

Verzeichnis der Abkürzungen

A.	Arteria / Arterie
Abb.	Abbildung
AB0	Blutgruppensystem
ACE	angiotensine converting enzyme
ARDS	acute respiratory distress syndrome
ATP	Adenosintriphosphat
BOS	Bronchiolitis-obliterans-Syndrom
C	Celsius
C4A	Celsior® antegrad, vier Stunden Ischämie
C4ADex	Celsior® 5 % Dextran antegrad, vier Stunden Ischämie
C6A	Celsior® antegrad, sechs Stunden Ischämie
C6R	Celsior® retrograd, sechs Stunden Ischämie
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
Ca ²⁺	Kalzium
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
Cl ⁻	Chlorid
cm	Zentimeter
CMV	Zytomegalievirus
CO ₂	Kohlendioxid
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
dynes*sec*cm ⁻⁵	Einheit des pulmonal-vaskulären Widerstandes
dPO ₂	absolute Oxygenierungskapazität
EC	Euro Collins
ET	extracellular type
FiO ₂	inspiratorische Sauerstofffraktion
flow _L	Lungenperfusionsrate
g	Gramm
h	Stunden
HES	Hydroxyäthylstärke
HLA	human leukocyte antigene
IFN-γ	Interferon-γ
IL	Interleukin
K ⁺	Kalium
Kap.	Kapitel
KH-Lösung	Krebs-Henseleit-Lösung
LAP	Linksatrialer Druck
L:D	Licht : Dunkelheit
LPD	low potassium dextran
μm	Mikrometer
M	Mittelwert
MG	Molekulargewicht
Mg ²⁺	Magnesium
min	Minuten
ml	Milliliter
ml/kg KG	Milliliter pro Kilogramm Körpergewicht
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
N ₂	Stickstoff
Na ⁺	Natrium
Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	Natrium-Kalium-Adenosintriphosphatase

NO	Stickstoffmonoxidanion
O ₂	Sauerstoff
p	Signifikanz
P4A	Perfadex [®] antegrad, vier Stunden Ischämie
P6A	Perfadex [®] antegrad, sechs Stunden Ischämie
PAF	platelet activating factor
PAP	pulmonal-arterieller Druck
PdO ₂	Sauerstoffpartialdruck des desoxygenierten Blutes
PEEP	positiver endexpiratorischer Druck
PIP	pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck
PoO ₂	Sauerstoffpartialdruck des oxygenierten Blutes
PVR	pulmonal-vaskulärer Widerstand
SD	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TNF	Tumornekrosefaktor
U	Internationale Einheit
UW	University of Wisconsin
V.	Vena / Vene
vWF	von Willebrand Faktor
W-D-Ratio	Feucht-Trocken-Verhältnis
y	Jahre
ZNS	Zentralnervensystem

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	7
2. Einleitung	9
2.1. Einführung	9
2.2. Entwicklung und Stand der klinischen Lungentransplantation	11
2.3. Struktur und Funktion der Lunge	12
2.4. Aktuelle Probleme in der klinischen Lungentransplantation	13
2.4.1. Primäres Transplantatversagen	13
2.4.2. Die quantitative und qualitative Problematik	19
2.5. Stand der Forschung – die Grundprinzipien der Lungenkonservierung	24
2.5.1. Hypothermie	25
2.5.2. pH-Wert	28
2.5.3. Konservierungslösungen	29
2.5.4. Retrograde Perfusion	36
2.5.5. Perfusionsdruck und –volumen	37
2.5.6. Ventilation und Inflation	38
2.5.7. Medikamentöse Beeinflussung bei der Lungenkonservierung	39
3. Ziele der Arbeit	43
4. Material und Methodik	44
4.1. Tierexperimentelles Modell	44
4.2. Versuchsbedingungen	45
4.2.1. Versuchsgruppen	45
4.2.2. Perfusionslösungen	45
4.2.3. Perfusionstemperatur	46
4.3. Präparation und Flushperfusion der Lungen	46
4.3.1. Narkose	46
4.3.2. Tracheotomie und endotracheale Intubation	46
4.3.3. Laparotomie und Thorakotomie	46
4.3.4. „Antegrade Perfusion“ – Kanülierungstechnik	47
4.3.5. „Retrograde Perfusion“ – Kanülierungstechnik	48
4.4. Kanülierung des Herz-Lungen-Paketes	48
4.5. Ischämiezeit	49
4.6. Reperusionslösung	49
4.6.1. Das Erythrozytenkonzentrat	49
4.6.2. Die Krebs-Henseleit-Lösung	50
4.7. Extrakorporale Reperfusion	51

4.8. Meßwerte	53
4.9. Statistische Methoden	55
5. Ergebnisse	56
5.1. Gasaustausch und Lungenmechanik	56
5.1.1. Absolute Oxygenierungskapazität	56
5.1.2. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck	59
5.2. Hämodynamische Parameter	62
5.2.1. Flushzeit	62
5.2.2. Pulmonal-vaskulärer Widerstand	64
5.3. Intrapulmonaler Wassergehalt	66
6. Diskussion	68
6.1. Diskussion der angewandten Technik	68
6.1.1. Standardbedingungen	68
6.1.2. Versuchstiere	68
6.1.3. Tiermodell	68
6.1.4. Perfusionsbedingungen	73
6.1.5. Lagerungsbedingungen	73
6.1.6. Reperfusat	74
6.1.7. Versuchsparameter	75
6.2. Diskussion der Ergebnisse	76
6.2.1. Absolute Oxygenierungskapazität	76
6.2.2. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck	77
6.2.3. Flushzeit	78
6.2.4. Pulmonal-vaskulärer Widerstand	79
6.2.5. Feucht-Trocken-Ratio	80
6.3. Interpretation der Einflüsse von Celsior®, Perfadex® und Dextran	81
6.4. Retrograde versus antegrade Perfusion	85
7. Schlußfolgerungen	87
8. Abbildungen	89
9. Tabellen	90
10. Literatur- bzw. Quellenverzeichnis:	91
11. Anhang	108
11.1. Danksagung	108
11.2. Lebenslauf	109
11.3. Ehrenwörtliche Erklärung	110
11.4. Publikationsverzeichnis	111

1. Zusammenfassung

Die Lungentransplantation hat sich seit den achtziger Jahren zu einem etablierten Verfahren der Behandlung terminaler Lungenerkrankungen unterschiedlichster Genese entwickelt. Trotz intensiver Forschung werden bis heute, im Vergleich zu anderen Organen, relativ hohe peri- und postoperative Mortalitätsraten beobachtet. Weiterhin beschränken sich die möglichen Ischämiezeiten auf 6 - 8 Stunden, was eine Auswahl von Spender und Empfänger nach übereinstimmenden HLA-Merkmalen undenkbar macht und zusätzlich die Transportradien einschränkt. In den letzten Jahren stagnierten die Transplantationszahlen wegen eines progredienten Mangels geeigneter Spenderorgane und bestreben die Forschung, geeignetere Konservierungsstrategien zu entwickeln. Die Verbesserung der pulmonalen Ischämietoleranz könnte den Organtransport über größere Distanzen sowie die Akzeptanz eventuell vorgeschädigter Lungen als Transplantat ermöglichen. Wichtige Forschungsinhalte waren die Entwicklung und Erprobung neuartiger Lösungen und adjuvanter Pharmaka sowie die Evaluation optimaler physikalischer Bedingungen und alternativer Applikationswege bei der Flushperfusion.

In dieser Arbeit wurde die zunehmend den klinischen Standard repräsentierende Perfadex®-Lösung, eine kommerzielle kaliumarme Dextranlösung, mit einer für die Lungentransplantation neuartigen Lösung verglichen (Celsior®). Die Ziele der Untersuchungen beinhalteten die Erprobung einer mit 5 % Dextran versetzten Celsior®-Lösung sowie die Verlängerung der Ischämiezeit von vier auf sechs Stunden und die Beobachtung der Auswirkungen der theoretisch vorteilhafteren retrograden Perfusion mit Celsior®.

Ein etabliertes, extrakorporales Reperfusionsmodell der Ratte wurde als kostengünstige und effektive Screeningmethode ausgewählt. Bei drei Untersuchungsgruppen war die Ischämiezeit auf vier Stunden festgelegt, dies beinhaltete eine native Perfadex®-Gruppe, eine native Celsior®-Gruppe und die durch 5 % Dextran modifizierte Celsior®-Lösung. Bei drei weiteren Untersuchungsgruppen wurden, dem klinisch etablierten Ischämieintervall entsprechend, sechs Stunden Ischämiezeit gewählt. Neben einer Gruppe mit nativer Celsior®-Lösung und einer weiteren Gruppe mit nativer Perfadex®-Lösung wurde in der letzten Gruppe Celsior®

retrograd appliziert. Im Anschluß an die Ischämiezeit wurden alle Lungen über fünfzig Minuten mit einer desoxygenierten erythrozytenhaltigen Lösung perfundiert und maschinell ventiliert. In zehnminütigen Intervallen wurden hämodynamische und respiratorische Parameter bestimmt und mittels Blutgasanalysen die Gasaustauschfunktion beurteilt. Zur Evaluation auftretender Lungenödeme dienten die nach der Reperfusionsphase gemessenen Feucht-Trocken-Quotienten.

Bei vierstündiger Ischämie erreichten die nativen Konservierungslösungen äquivalente Ergebnisse, wohingegen sich bei verlängerter Ischämiedauer eine Überlegenheit von Perfadex[®] herausstellte. Durch Modifizierung der Celsior[®]-Lösung oder retrograde Perfusion konnten die Konservierungsergebnisse deutlich verbessert werden, wobei Dextranszugabe das geringste Ausmaß an Ischämie-Reperfusions-Schäden zur Folge hatte. Aus theoretischen Überlegungen heraus scheint Celsior[®] für den Einsatz bei der Lungentransplantation besonders geeignet. Ein niedriger Kaliumgehalt begrenzt vasokonstriktorische Effekte, mit Laktobionat und Mannitol wird eine antiödematöse Wirkung erreicht und ein leicht azidotischer pH-Wert sowie der hohe Magnesiumgehalt beeinflussen die Kalziumhomöostase in der glatten Muskulatur günstig. Drei Antioxidantien (reduziertes Gluthathion, Mannitol und Histidin) sorgen für eine hohe Pufferkapazität gegen Sauerstoffradikale, die für den Ischämie-Reperfusions-Schaden hauptverantwortlich gemacht werden. Perfadex[®] besitzt neben dem niedrigen Kaliumgehalt keine weiteren Antioxidantien. Zentraler Inhaltsstoff ist die antiödematös wirkende Substanz Dextran. Dieses Molekül wirkt, neben antithrombotischen Eigenschaften, positiv auf den mikrovaskulären Fluß und ist potenter Inhibitor der Aggregation diverser Blutzellen. Da der wesentliche Unterschied zwischen Celsior[®] und Perfadex[®] sich auf das Vorhandensein von Dextran reduzieren läßt, kann die Bedeutung dieses Moleküls für die erfolgreiche Lungentransplantation mit längeren Ischämiezeiten als entscheidend angenommen werden.

In einem Großtiermodell sollten die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse überprüft werden, bevor eine klinische Erprobung durchgeführt werden kann. Die retrograde Flushperfusion mit Celsior[®]-Dextran-Lösung ist möglicherweise der Schlüssel für weitere Fortschritte auf dem Gebiet der Lungentransplantation.

2. Einleitung

2.1. Einführung

Die Lungentransplantation gilt heute als akzeptiertes Verfahren zur chirurgischen Therapie von Patienten im Endstadium einer Lungenerkrankung (Grover et al., 1997; Franke et al., 2000; Fischer et al., 2002). Wesentliche Voraussetzung für die Indikationsstellung ist die Progredienz der ursächlichen Erkrankung trotz optimaler konservativer Therapie. Das Indikationsspektrum beinhaltet neben häufigen Erkrankungen wie chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen (COPD) auch weitere Formen des Lungenemphysems wie den α -1-Antitrypsinmangel. Ferner stellen weitere parenchymatöse Erkrankungen wie die idiopathische pulmonale Fibrose, sowie die Mukoviszidose, aber auch vaskuläre Erkrankungen wie die primäre pulmonale Hypertonie neben chronisch infektiösen Leiden (z.B. Bronchiektasien) und selteneren Indikationen wie der Sarkoidose oder der Lymphangioliomyomatose eine Operationsindikation dar. Bei der heutzutage seltenen kombinierten Herz-Lungentransplantation sind die häufigsten Indikationen komplexe kardiovaskuläre Erkrankungen wie schwere kongenitale Vitien mit Eisenmengerreaktion und die primäre pulmonale Hypertonie (Fischer et al., 2002; Hertz et al., 2002).

Anfang der achtziger Jahre entwickelte sich die Lungentransplantation insbesondere durch Einführung einer kompetenten Immunsuppression zu einem klinisch etablierten Verfahren. Seit 1994 hat sich die absolute Zahl an durchgeführten Lungentransplantationen weltweit allerdings auf einem Plateauwert eingependelt. Es werden jedes Jahr ca. 1450 Einzel- und Doppellungentransplantationen durchgeführt, wobei das Verhältnis dabei annähernd ausgeglichen ist. Im Gegensatz dazu hat die Zahl der Herz-Lungentransplantationen in den letzten Jahren stetig abgenommen. Zwischen 1988 und 1995 waren es ca. 200 Operationen jährlich, wohingegen im Schnitt in den folgenden Jahren nur etwa 100 bis 150 Transplantationen pro Jahr durchgeführt wurden (Hertz et al., 2002).

Wichtigster Grund für stagnierende Lungentransplantationszahlen ist der Mangel an Spenderorganen, wobei die Sterblichkeit auf der Warteliste weltweit mit ca. 20 % für das erste Jahr und 40 % nach zwei Jahren angegeben wird. Hierdurch werden in der Zukunft neue und weitere Konzepte der Spenderallokation notwendig sein.

Dazu zählen möglicherweise die Transplantation von Lungen herztoter Patienten (Non-Heart-Beating Donor), die Xenotransplantation (Transplantation von z.B. Schweinelungen auf den Menschen) oder die ausgedehntere Anwendung der Lebendspende von Lungen oder Lungenlappen (Fischer et al., 2002).

Die aktuellen Prognosen mit einer relativ hohen perioperativen Mortalität von ca. 20 % und im Vergleich zu anderen Organen relativ niedrigen Ein- bzw. Fünf-Jahresüberlebensraten von 75 % bzw. 50 % sind vor dem Hintergrund einer ohne Transplantation letalen Lungenerkrankung zu betrachten. Die Risikofaktoren bei Betrachtung der Mortalität sind z.B. das Alter von Spender oder Empfänger, die zugrundeliegende Erkrankung, das Gewicht des Empfängers und auch die Erfahrung des transplantierenden Zentrums. Hierbei können teils gravierende Unterschiede in Bezug auf Ein- bzw. Fünfjahresmortalität beobachtet werden (Hertz et al., 2002).

In den letzten Jahren konnte insbesondere durch Fortschritte bei der Lungenkonservierung die perioperative Mortalität verbessert werden. Die Ausdehnung der derzeit möglichen Ischämiezeit von etwa sechs Stunden und eine Verbesserung der Konservierungsqualität sind in diesem Bereich der Forschung die Hauptziele (Kirk et al., 1993; Grover et al., 1997; Stewart and Patterson, 2001).

Durch eine längere Periode zwischen Entnahme und Transplantation könnten längere Transportwege und eine dem HLA-System (human-leucocyte-antigen) gerechte Auswahl des Empfängers ermöglicht werden. Eine qualitativ bessere Konservierung würde den Reperfusionsschaden und damit die perioperative Mortalität vermindern. Ferner könnten hierdurch auch qualitativ nicht optimale Lungen zur Transplantation in Betracht gezogen werden.

Damit ist und bleibt das Gebiet der Lungenkonservierung von entscheidendem Interesse. Als derzeitiger klinischer Standard in der Lungenprotektion gilt die Flushperfusion mit Lösungen, die der extrazellulären Elektrolytzusammensetzung entsprechen (Stewart & Patterson, 2001; Fischer et al., 2002). Experimentelle Studien beschäftigen sich momentan vor allem mit der Optimierung vorhandener Lösungen durch weitere Modifizierung, der Entwicklung neuartiger Medien und Perfusionsmethoden sowie der pharmakologischen Beeinflussung des sogenannten Ischämie-Reperfusionsschadens in den verschiedenen Phasen des Transplantationsprozesses (Stewart & Patterson, 2001).

2.2. Entwicklung und Stand der klinischen Lungentransplantation

Schon 1947 transplantierte der russische Physiologe V. P. Demikhov Lungenlappen bei Hunden. Obwohl ein Tier immerhin sieben Tage überlebte, wurden seine Ergebnisse erst 1962 nach Publikation in englischer Sprache bekannt (Demikhov, 1962).

1950 untersuchten Staudacher, Bellinazzo und Pulin erstmalig Auto- und Allotransplantationen am Hund. Anhand der Organfunktion konnten sie den deutlichen Unterschied im Abstoßungsverhalten zwischen Auto- und Allotransplantaten nachweisen (Staudacher et al., 1950).

Zur gleichen Zeit beschrieb Metras die erste erfolgreiche Transplantation eines Lungenflügels am Hund (Metras, 1950).

Nach unzähligen eigenen Versuchen mit Hunden gelang es Dr. J. Hardy im Jahre 1963 an der University of Mississippi, erstmals eine Einzellungentransplantation an einem Menschen vorzunehmen. Der Patient verstarb allerdings nach nur 18 Tagen an einer Urämie, wobei das transplantierte Organ bis zum Tode suffizient arbeitete und in der pathologischen Aufarbeitung nur unwesentliche Veränderungen aufwies (Hardy, 1999).

In den folgenden Jahren bis 1983 wurden weltweit etwa vierzig Lungentransplantationen durchgeführt (Grover et al., 1997). Bis auf einen Fall im Jahre 1971 mit einer zehnmonatigen Überlebenszeit konnten allerdings keine Langzeiterfolge erzielt werden (Derom et al., 1971). Die Hauptprobleme waren unbeherrschbare Abstoßungsreaktionen, Infektionen und Dehiszenzen der bronchialen Anastomosen.

Die Weiterentwicklung der technischen Verfahren, besonders in den Bereichen der Gefäß- und Bronchusanastomosierung sowie der Organkonservierungsverfahren, bildeten die Grundlage für die klinisch-technische Etablierung der Lungentransplantation. Der Durchbruch gelang schließlich im Jahre 1983 nach der Einführung des Zyklosporins zur Immunsuppression und der hierdurch verminderten immunologisch bedingten Transplantatabstoßung. Dr. J. Cooper führte an der University of Toronto, Kanada, im Jahre 1983 die erste Einzellungentransplantation mit vergleichsweise bahnbrechendem Langzeiterfolg durch (Cooper et al., 1987). In den folgenden zwei Jahren führte die Arbeitsgruppe um Dr. Cooper weitere sieben erfolgreiche Transplantationen durch, davon konnten in fünf Fällen

zufriedenstellende Langzeitergebnisse erzielt werden (Toronto Lung Transplant Group, 1986).

Diese Erfolge führten zu einer weltweiten Einführung der Lungentransplantation in die klinische Praxis spezialisierter Zentren. Bis zum heutigen Tage wurden über vierzehntausend Einzel- und Doppellungen transplantiert. Seit 1994 stagniert die Zahl der Operationen und liegt derzeit auf einem gleichbleibenden Niveau von ca. 1400 - 1500 jährlich durchgeführten Operationen (Hertz et al., 2002).

Zurückführen läßt sich dies auf den relativen Mangel an Spenderorganen bei sinkenden Spenderzahlen. Die Gruppe der potentiellen Empfänger vergrößerte sich durch Ausweitung der Operationsindikationen dagegen stetig. Hierdurch erklärt sich die durchschnittliche Sterblichkeit auf der Warteliste von international ca. 20 % für das erste Jahr und 40 % nach zwei Jahren (Fischer et al., 2002).

Die durchschnittlichen Überlebensraten ließen sich dagegen seit 1990 trotz intensiver Forschung im Bereich von Immunsuppression, postoperativem Management und der Lungenkonservierung nicht wesentlich steigern (Hertz et al., 2002).

2.3. Struktur und Funktion der Lunge

Die funktionellen Anforderungen des Gasaustausches setzen eine spezifische Struktur innerhalb der Lunge voraus, die den Luft gefüllten Raum vom Gefäßsystem trennt, ohne dabei eine unüberwindbare physikalische Barriere aufzubauen. Neben den für die Aerodynamik notwendigen Strukturen des Tracheobronchialsystems findet die für den Gasaustausch erforderliche histologische Struktur der „Blut-Luft-Schranke“ ihre Entsprechung in den Alveolarsepten. Diese Alveolarsepten sind in ihrem Aufbau völlig den Erfordernissen angepaßt, den Gasaustausch zwischen Blut und Alveole zu erleichtern. Vorherrschendes Aufbaumerkmal ist die enorme Feinheit der Schichten zwischen Kapillaren und Alveolen bei hoher Kapillardichte und Septierungsgrad zur Vergrößerung der Austauschoberfläche. Die drei Hauptstrukturen Gefäßendothel, Interstitium und Alveolarepithel weisen jeweils mittlere Schichtdicken zwischen 0,3 und 1,2 μm auf. Die Basalmembranen sowohl des Endothels als auch des Epithels sind dabei im Mittel nur 0,1 μm stark. Damit ist der physikalische Austausch von O_2 und CO_2 entlang des jeweiligen Blut/Gas-Gradienten im Rahmen der Kontaktzeit gewährleistet.

Gleichwohl sind in die Alveolarsepten auch funktionell adaptive Strukturen integriert. Glatte Muskelzellen und Fibroblasten, bindegewebige Filamentstrukturen sowie eine Glykomatrix durchsetzen das Interstitium. Perizyten und immunkompetente Zellen wie Mastzellen, Histiozyten und Lymphozyten finden sich regelhaft. Lymphgefäße nehmen ihren Ursprung in diesem Raum und formieren sich in der Basis des Septums. Das Alveolarepithel besteht überwiegend aus einer homogenen Schicht von Typ-I-Alveozyten, die eine dünne Surfactantaufgabe tragen und deren Hauptfunktion der Gasaustausch ist. Die Typ-I-Zellen besitzen eine relativ einfache Zellstruktur und weisen keine Teilungsfähigkeit mehr auf. Die Dicke der Blut-Luft-Schranke ist durch die Verschmelzung der dem Alveolarlumen abgewandten Basalmembran mit der Basalmembran der Endothelzellen so gering wie möglich gehalten. Die Typ-II-Zellen sind vereinzelt in den Epithelverbund integriert und liegen besonders in den Nischen der Alveolarwände auch in Gruppen vor und ersetzen durch weitere Differenzierung untergegangene Typ-I-Zellen. Die Typ-II-Alveozyten produzieren und sezernieren Surfactant und Zytokine. Der Surfactant überzieht das Alveolarepithel als homogener Phospholipidfilm und reduziert die alveoläre Oberflächenspannung und verhindert damit den spontanen Kollaps der Alveolen.

2.4. Aktuelle Probleme in der klinischen Lungentransplantation

2.4.1. Primäres Transplantatversagen

In den achtziger Jahren konnten bedeutsame Fortschritte in Bezug auf das kurz- und langfristige Ergebnis nach Lungentransplantation durch Einführung der Immunsuppression, technische Verbesserungen und verbesserte Konservierungsbedingungen erreicht werden. Trotzdem besteht immer noch eine relativ hohe perioperative Mortalität, und das Langzeitüberleben befindet sich noch nicht auf dem Niveau der Transplantation anderer Organe (Hertz et al., 2002). Das primäre Transplantatversagen in der frühen postoperativen Phase tritt immer noch bei 15 – 20 % aller Transplantationen auf und ist eine signifikante Ursache der perioperativen Mortalität sowie der Entstehung von Spätkomplikationen.

Das klinische Szenario eines primären Transplantatversagens umfaßt ein rasch auftretendes schweres Oxygenierungsproblem, ein Lungenödem und eine verminderte Lungencompliance und endet häufig in einem Multiorganversagen. Es tritt unabhängig von Alter, zugrundeliegender Lungenerkrankung, präoperativer

pulmonaler Hypertonie, Art der Transplantation, Verwendung der Herz-Lungen-Maschine während der Transplantation oder Prostaglandin E₁-Therapie auf (Thabut et al., 2002). Es reicht von einer milden Form bis hin zum voll ausgeprägten ARDS (acute respiratory distress syndrome), und die pathophysiologischen Mechanismen scheinen denen des ARDS sehr ähnlich zu sein. Zentraler Ansatzpunkt zur Vermeidung eines primären Transplantatversagens ist es, die Qualität der Lungenkonservierung zu verbessern, um die Einflüsse von Entnahme, Ischämie und Reperfusion zu minimieren (Kelly, 2000).

Das auch als Ischämie-Reperfusions-Schaden bezeichnete frühe Lungenversagen ist ein sehr komplexer Mechanismus, der bis dato nur ansatzweise verstanden ist.

Durch bessere Kenntnis der zugrunde liegenden pathophysiologischen und pathobiochemischen Vorgänge könnten angepaßte Konservierungstechniken und therapeutische Strategien (meist medikamentöser Natur) entwickelt werden, die eine verbesserte Organfunktion nach Transplantation ermöglichen würden.

Auf der Suche nach der optimalen Konservierungslösung wurden bereits die Vorteile einer extrazellulären Ionenzusammensetzung erkannt, wobei besonders die Einführung kaliumarmer Lösungen einen Fortschritt bei der Prävention pulmonaler Ödeme bedeutete. Impermeable Substanzen spielen als Zusatz schon seit den Anfängen der Organkonservierung eine große Rolle, ebenso die Versorgung mit energiereichen Substraten und der Zusatz von Radikalfängern (s. Kap. 2.5.3.).

Neben der Schädigung des eigentlichen Lungengewebes sind im Rahmen des primären Transplantatversagens auch im Gefäßendothelium zahlreiche pathologische Veränderungen nachweisbar. Um eine adäquate Funktion der gesamten Lunge zu gewährleisten, muß der optimale Grad an Vasodilatation und die bestmögliche endotheliale Zellintegrität erhalten werden. Neben mechanischen Gesichtspunkten, d.h. einer möglichst homogenen Verteilung der Perfusionslösung, einer raschen Ausspülung toxischer Metabolite und Blutbestandteile und einer gleichmäßigen, schnellen Kühlung scheinen weitere Mechanismen bedeutenden Einfluß auf die Entwicklung eines primären Transplantatversagens zu haben. In Betracht kommen verschiedene second-messenger-Systeme, die Interaktion des Endothels mit Neutrophilen und prothrombotische Mechanismen, auf die im folgenden näher eingegangen werden soll (Pinsky, 1995).

Physiologischerweise produzieren die Endothelzellen zahlreiche vasoaktive Substanzen, darunter große Moleküle wie Fibronectin, Heparinsulfat, Interleukin-1,

Gewebs-Plasminogen-Faktor und zahlreiche Wachstumsfaktoren und kleinere Moleküle wie Prostazyklin, NO, PAF (platelet-activating factor) und Endothelin-1 (Vane et al., 1990). Die Produktion dieser Substanzen wird erstens durch die Konzentration intrazellulärer Messenger, wie cAMP, cGMP und Calcium, und zweitens durch Interaktionen zwischen dem Endothel und Leukozyten, Thrombozyten und Plasmabestandteilen beeinflusst. Endogene Vasodilatoren sind das Prostazyklin und NO. Prostazyklin stimuliert die Adenylatzyklase und erhöht dadurch den intrazellulären Gehalt an cAMP, wohingegen durch NO die Guanylatzyklase zur gesteigerten Produktion von cGMP angeregt wird. Das cAMP/cGMP wirkt vasodilatatorisch, indem es die Calciumkonzentration absenkt, vorzugsweise durch Hemmung des Calciumeinstroms ins Sarkolemm. Die cAMP/cGMP-abhängigen Proteinkinasen phosphorylieren direkt spannungs- und rezeptorabhängige Calciumkanäle und aktivieren gleichzeitig Kaliumkanäle. Folge ist eine Membranhyperpolarisation mit konsekutiver Abnahme des spannungsabhängigen Calciumeinstroms (Tateson et al., 1977; Hampl & Herget, 2000).

Das pulmonale Gefäßbett reagiert auf Hypoxie mit einer Vasokonstriktion, die teilweise durch endothel-abhängige Mechanismen vermittelt ist (Rodman et al., 1990). In Verbindung mit der aktivierten Thrombozytenaggregation kommt es zu einem verringerten Sauerstoffangebot für das Endothelium, einem Anstieg des zellulären Ödems durch gesteigerte Gefäßpermeabilität und einer vermehrten Thromboseneigung im Pulmonalgefäßbett (Kelly, 2000).

In einer experimentellen Studie konnte der Nachweis erbracht werden, daß durch Ischämie eine signifikante Reduktion der cAMP-vermittelten Vasodilatation verursacht wird (Fullerton et al., 1993). Eine weitere Studie zeigte, daß pulmonale Vasokonstriktion durch experimentelle Inhibition der Guanylatzyklase induziert werden kann (Pinsky et al., 1994).

Nach der Entnahme des Transplantats kommt es umgehend zu einem Abfall der NO- und cGMP-Spiegel. Die Verabreichung von NO oder NO-Donatoren während der Explantation resultierte in einer verbesserten Organfunktion und geringeren Mortalität (Pinsky et al., 1994; Yamashita et al., 1996; Bhabra et al., 1997a). In der Reperfusionsphase kommt es zum raschen Verbrauch von NO, da es mit angefluteten Superoxidanionen reagiert, woraus eine verstärkte vaskuläre Dysfunktion resultiert (Karamsetty & Klinger, 2002).

Es erscheint deshalb sinnvoll, den abfallenden NO-Spiegel während der Reperfusionsphase anzuheben [Kap. 2.5.7.]. Mögliche Varianten sind die Gabe von L-Arginin, einer molekularen Vorstufe, und die Erhöhung des cGMP-Spiegels oder die Applikation von exogenem NO. Die Resultate verschiedener Studien sind kontrovers, da die NO-Applikation neben positiven Effekten genauso als ineffektiv oder gar schädigend beschrieben wurde. Die Ursache ist in der Eigenschaft des NO zu sehen, mit Superoxidanionen zu Peroxynitrit zu reagieren. Dies ist ein hochreaktives Oxidans, das Typ II Alveozyten bereits nach kurzen Ischämiezeiten zu schädigen vermag. Ebenso kann Peroxynitrit zu strukturellen und funktionellen Veränderungen von Surfactant führen. Dieser Mechanismus wird insbesondere bei Beatmung mit hohen Sauerstoffpartialdrücken beobachtet (Murakami et al., 1997). Klinisch wird NO trotz der kontroversen Eigenschaften angewendet, da es Mißverhältnisse zwischen Ventilation und Perfusion auszugleichen vermag und den pulmonalarteriellen Druck senkt, ohne den systemischen Blutdruck zu beeinflussen (Ardehali et al., 2001).

Neben den oben beschriebenen Mechanismen scheint NO noch weitere vorteilhafte Eigenschaften im Rahmen der Lungentransplantation zu haben. Neuere Studien haben gezeigt, daß NO die Leukozytenadhäsion an pulmonale Endothelzellen hemmt und damit auch die Leukozytensequestration in die transplantierte Lunge mit der Folge einer geringeren Zellschädigung (Bacha et al., 1997). Durch NO wird die Synthese des vasokonstriktiv wirksamen Endothelin-1 inhibiert, was ebenfalls zu einer verbesserten Organfunktion führt (Blumberg et al., 2001).

Infolge des Einflusses der Hypoxie kommt es zu einer unselektiven Steigerung der Kapillarpermeabilität. Zwischen den angeschwollenen Endothelzellen entstehen kleine Spalten, so genannte „endothelial gaps“, durch hypoxisch bedingte Veränderungen im Aktin-Zytoskelett (Ogawa et al., 1990; Ogawa et al., 1992). Durch einen sinkenden cAMP-Spiegel infolge hypoxischer Hemmung der Adenylatzyklase entsteht ein verstärkter Calciumeinstrom, der zahlreiche Enzymsysteme, unter anderem auch Phospholipasen aktiviert. Resultat ist eine vermehrte Bildung von Arachidonsäurederivaten, die eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität bewirkt (Borgers et al., 1983).

Versuche mit der Verabreichung von cAMP-Analoga zeigten eine verbesserte Schrankenfunktion des Endothels (Kayano et al., 1999). Eine ähnliche Wirkung kann durch Gabe von Prostazyklin erreicht werden, da durch die Stimulation der

Adenylatzyklase ein cAMP-Anstieg resultiert (Obo & Yamashita, 1990). Kalziumkanalblocker können den vasokonstriktorisches wirksamen Kalziumeinstrom ebenfalls wirksam inhibieren und wirken durch diesen Mechanismus protektiv auf das Transplantat (Spaggiari et al., 1994).

Die Interaktion des Gefäßendothels mit neutrophilen Granulozyten zu Beginn der Reperfusion führt zur Freisetzung von Sauerstoffradikalen, Zytokinen und Proteasen, die schädliche Wirkung auf endotheliale und epitheliale Zellen haben. Hierdurch verstärkt sich die ohnehin bestehende vaskuläre Dysfunktion. Besondere Bedeutung wird den freien Radikalen zugesprochen, da sie die Bildung inflammatorischer Substanzen anregen und damit neutrophile Granulozyten aktivieren und den Prozeß der Lungenschädigung verstärken (Kelly, 2000). Es wurde gezeigt, daß die Lipidperoxidation von Membranproteinen ein wichtiger Bestandteil der Schädigung durch Sauerstoffradikale ist und durch Zusatz von Antioxidantien und Radikalfängern wirksam abgeschwächt werden kann (Nezu et al., 1994). Zur Gewährleistung einer genügenden Oxygenierung sind oft hohe Sauerstoffpartialdrücke bei der Beatmung notwendig. In diesem Milieu wird die Bildung von Radikalen noch verstärkt (Karamsetty & Klinger, 2002).

Die vermehrte Synthese und Sekretion von Entzündungsmediatoren beinhaltet beispielsweise das Interleukin-1 α , das die Kapillarpermeabilität erhöht und im Sinne einer Kaskade zur Sekretion weiterer Mediatoren, z.B. Interleukin-8, TNF- α und Interferon- γ führt und so die Entzündungsreaktion verstärkt. Außerdem besitzen diese Interleukine auch eine chemotaktische Aktivität für Neutrophile (Eppinger et al., 1997).

Besondere Bedeutung wird dem platelet activating factor (PAF) zugesprochen, der aus Thrombozyten, Endothelzellen und Neutrophilen freigesetzt wird und ein starker Aktivator von Neutrophilen ist. Versuche mit der gezielten Hemmung durch Antagonisten konnten eine Senkung der Kapillarpermeabilität nachweisen, besonders in Verbindung mit der gezielten Inhibition von Endothelin-1, einem endogenen Vasokonstriktor (Stammlberger et al., 1999; Wittwer et al., 2001).

Außer der Neutrophilenaktivierung begünstigt PAF die Thrombozytenaggregation und führt neben der ablaufenden Gerinnungskaskade zu einer verstärkten Koagulationsfähigkeit des Blutes, da die „endothelial gaps“ zur Kontaktaktivierung

des Gerinnungssystems führen. Aus den Endothelzellen wird vermehrt von-Willebrand-Faktor (vWF) ausgeschüttet, der ebenfalls koagulationsfördernd wirkt.

Zur Lungenparenchymschädigung kommt es bereits zu Beginn der Ischämiephase, bedingt durch die Instabilität des Ionengleichgewichts, vor allem wegen des Aktivitätsverlustes der energieabhängigen $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ in den Alveozyten. Physiologischerweise dient sie der alveolaren Flüssigkeitsclearance durch Aufbau eines osmotischen Gradienten. Durch aktiven Na^+ -Transport entsteht über dem Alveolarepithel ein osmotischer Gradient, der die Flüssigkeitsabsorption aus dem Alveolarraum antreibt. Nach neueren Erkenntnissen sind dabei nicht nur Alveozyten des Typs II sondern auch des Typs I beteiligt. Na^+ -Ionen werden durch verschiedene Kationenkanäle in die Zelle aufgenommen und an der basolateralen Membran über den ATP-abhängigen Co-Transport durch die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ aus der Zelle geschleust, dabei werden K^+ -Ionen in das Zellinnere transloziert. Dieser Mechanismus wird durch verschiedenste Stimuli reguliert, z.B. Hormone wie Dopamin, Katecholamine, Glukokortikoide, Aldosteron und Schilddrüsenhormone, aber auch durch pathologische Bedingungen, z.B. ein Lungenödem. Von Bedeutung ist gleichzeitig die intakte Funktion der epithelialen Kontaktbarriere (tight junctions) (Kim et al., 2000; Crandall & Matthay, 2001; Chinet, 2002).

Durch eine geringere Aktivität der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ fällt das Membranpotential und damit das Gleichgewichtspotential für Cl^- -Ionen ab, hierdurch erhöht sich die intrazelluläre Cl^- -Konzentration und zum Ladungsausgleich auch der Na^+ -Einstrom. Der Erhöhung der intrazellulären Gesamtionenkonzentration folgt durch Anstieg des osmotischen Druckes ein Wassereinstrom, der zum Anschwellen der Zellen führt und in der Ausbildung eines Ödems der Lunge resultiert (Schmidt & Thews, 1997; Kim et al., 2000; Crandall & Matthay, 2001).

Desweiteren kommt es bei Versagen der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ zum Kaliumausstrom aus den Zellen mit einem ausgleichenden Calciumeinstrom ins Zytosol, der eine Protease aktiviert. Folge dieser Aktivität ist die Konvertierung der Xanthindehydrogenase zur Xanthinoxidase. Durch den Abbau von ATP steht vermehrt Substrat zur Verfügung. Sobald während der Reperfusion Sauerstoff zur Verfügung steht, erfolgt die Umwandlung von Xanthin oder Hypoxanthin, bei der Superoxide freigesetzt werden, die durch Lipidperoxidation von Zellmembranen und Zellbestandteilen zur Zellschwellung und zum Verlust der intakten Zellbarriere führen

(Sakamaki et al., 1997; Kelly, 2000). Wirksamer Angriffspunkt ist die Xanthinoxidase, hemmbar mit Allopurinol, und die Zugabe von bereits endogen vorhandenen Radikalfängern, wie Gluthathion, zur Perfusionslösung (Aiba et al., 1992; Chiang et al., 1998).

Die beschriebenen Vorgänge machen deutlich, wie komplex der Mechanismus des primären Transplantatversagens ist. Durch immer bessere Kenntnis der vorliegenden pathophysiologischen und pathobiochemischen Mechanismen ist es aber bereits gelungen, gezielt einzugreifen und das Ausmaß des Lungenschadens bei der Lungentransplantation zu senken.

2.4.2. Die quantitative und qualitative Problematik

Durch die Ausweitung der Indikationsstellung zur Lungentransplantation wuchs die Zahl der potentiellen Empfänger in der letzten Dekade deutlich an. Die Zahl der Spender sinkt dahingegen, wobei nur 10 - 20 % der Lungen von Organspendern transplantiert werden. In einer retrospektiven Studie wurde jedoch festgestellt, daß bei korrekter Auswahl 25 % der Organspender verwendbare Lungen besitzen (Egan et al., 1992). Oft muß wegen postkontusionellen Lungenveränderungen, Aspirationspneumonien und bei Langzeitbeatmung auftretenden nosokomialen Pneumonien auf eine Transplantation verzichtet werden. Zusätzlich kommt es bei Spendern mit Schädel-Hirn-Trauma gehäuft durch zerebrale Dysregulation zu einem neurogenen Ödem der Lunge (Arcasoy & Kotloff, 1999; Fischer et al., 2002).

Dieses Mißverhältnis hat die Wartezeit auf eine Lungentransplantation verlängert, diese beträgt heute im Schnitt 18 Monate (Arcasoy & Kotloff, 1999). Dadurch stieg ebenso die Sterblichkeit auf der Warteliste in den letzten Jahren deutlich an [Kap. 2.2.].

Kriterien	Standard (ideal)	Erweiterte Kriterien (grenzwertig)	Kontraindikationen
AB0-Kompatibilität	übereinstimmend	kompatibel	inkompatibel
Spenderanamnese:			
Alter [y]	< 55	> 55	
Raucheranamnese [y]	< 20	> 20	
Thoraxtrauma	kein Trauma	lokal begrenzt	ausgedehnt
Mechanische Ventilation [h]	< 48	> 48	
Asthma bronchiale	negativ	positiv	
Tumoranamnese	negativ (Ausnahmen: niedrigmaligner Hautkrebs und Carcinoma in situ)	primäre ZNS-Tumoren	positiv
Sputumausstrich	negativ	positiv	
Thoraxröntgen	unauffällig	lokale Abnormalitäten	diffuse Infiltrate
Bronchoskopie	unauffällig	Sekret in den großen Atemwegen	persistierender Eiter / Aspirationszeichen
Oxygenierung ($\text{FiO}_2 = 1,0$; PEEP = 5 cm H ₂ O) [mmHg]	> 300	< 300	

[Tab. 2.3.] Kriterien zur Auswahl von Lungenspendern

Mehrere Ansatzpunkte zur Lösung der Problematik kommen in Betracht: die Liberalisierung der Kriterien der Spenderauswahl oder die Ausweitung der Ischämiezeit bei Verbesserung der Konservierungsqualität, wodurch längere Transportwege möglich wären. Weitere Möglichkeiten ergäben sich durch die Verwendung von Organen herztoter Spender (Non-Heart-Beating Donors), die Xenotransplantation oder die ausgedehntere Anwendung der Lebendspende von Lungenlappen (Arcasoy & Kotloff, 1999; Fischer et al., 2002).

Im Rahmen von Transplantationen steht auch immer die Frage nach der Definition des Hirntods im Mittelpunkt der Diskussion. Das deutsche Transplantationsgesetz gibt eindeutige Regeln zur Hirntodfeststellung vor und bindet diese an vorgeschriebene diagnostische Maßnahmen. Zunächst muß zweifelsfrei sein, daß keine anderen Organstörungen wie Kreislaufschock, Vergiftung, Unterkühlung, Stoffwechselentgleisung oder Medikamentenwirkung eine *reversible* Hirnfunktionsstörung verursachen.

Erst dann wird durch eine fachneurologische Untersuchung das Vorliegen einer tiefen Bewußtlosigkeit, sowie der Ausfall aller Hirnstammreflexe und der Spontanatmung überprüft. Neben der zweimaligen Durchführung dieser Untersuchungen innerhalb von zwölf Stunden ist eine zusätzliche Elektroenzephalographie mit isoelektrischer Stille in allen Ableitungen zwingend vorgeschrieben. Nach derzeitigem Wissensstand ist mit diesen Untersuchungen die eindeutige Feststellung eines *irreversiblen* Ausfalls aller Großhirnfunktionen möglich. Eine breite ethische Diskussion entstand indes durch die mögliche Heranziehung herztoter Spender zur Lösung des Organmangels.

Kriterien für herztote Spender:

- Tod bereits bei der Ankunft im Krankenhaus
- Zustand nach erfolgloser Reanimation
- Zustand nach der Einstellung lebenserhaltender Maßnahmen wie künstlicher Beatmung
- Hirntote Patienten mit Herzstillstand

Ungeklärt ist die Definition, wann ein Non-Heart-Beating-Spender wirklich tot ist, bzw. wann ein Kreislaufstillstand als irreversibel anzusehen ist. Außerdem müssen bei dieser Methode kurze Zeit nach Eintritt des Stillstandes konservierende Maßnahmen eingeleitet werden, um Organe eines solchen Spenders überhaupt transplantieren zu können (Vanrenterghem, 2000). Erste klinische Erfolge konnten auch bei der Lungentransplantation erzielt werden. Im Vorfeld standen ausführliche Untersuchungen im Tierexperiment und breite ethische Diskussionen. Das Resultat unterschied sich nur geringfügig von Transplantationen unter Verwendung der Standardmethode der Organentnahme (Steen et al., 2001).

Die Xenotransplantation von Lungen, vorzugsweise von Schweinen, ist heute noch weit von einer klinischen Erprobung entfernt. Trotz ähnlicher Anatomie kommt es zu chirurgischen Schwierigkeiten bei der Implantation und einer starken Konstriktion pulmonaler Gefäße. Die Folge ist ein bedrohlicher Anstieg des pulmonal-vaskulären Widerstandes kurz nach der Transplantation.

Im Gegensatz zum Menschen exprimieren Schweine und andere Säugetiere auf ihrem Gefäßendothel α -1,3-Galaktosedisaccharide. An dieses Saccharid binden präformierte humane Antikörper und führen durch Aktivierung der Komplementkaskade zu einer hyperakuten Abstoßungsreaktion (Arcasoy & Kotloff, 1999; Platt et al., 2002).

Vielversprechend ist dagegen das Gebiet der Lebendspende im Rahmen der Lungentransplantation besonders bei pädiatrischen Empfängern, hier scheinen die Resultate gegenüber der Verwendung von Organen toter Spender sogar besser zu sein (Starnes et al., 1999). Meist kommen nur Kinder und kleinwüchsige Erwachsene als Empfänger einer Lebendspende in Betracht, da ansonsten der Lungenlappen des Spenders im Verhältnis zum Thoraxraum des Empfängers zu klein ist. Emphysematiker scheiden hier durch die Vergrößerung des Brustraumes als potentielle Empfänger aus (Stewart & Patterson, 2001).

Bei Doppellungentransplantation wird bei einem Spender eine Lobektomie des linken Unterlappens und bei einem weiteren eine Lobektomie des rechten Unterlappens durchgeführt (Cohen & Starnes, 2001). Die Lebendspende ist zwar mit einer äußerst geringen perioperativen Mortalität der Spender verbunden, es treten aber durchaus Komplikationen im Rahmen der Operation und Nachbeobachtung auf. Neben Blutung, Infektion, Fistelbildung und Perikarditis werden vor allem vermehrte Luftlecks und erhöhte Drainagemengen nach Spenderoperationen beschrieben. Dies geht mit einer längeren Liegezeit der Thoraxdrainagen und Hospitalisation der Patienten einher (Battafarano et al., 2000). Auf die Gesamtpopulation der Lungentransplantationskandidaten wirkt sich die Etablierung der Lebendspende ebenfalls aus, da in Frage kommende Empfänger schneller einer Transplantation unterzogen werden können. Die Reduktion der Gesamtzahl der Kandidaten für eine Lungentransplantation erhöht damit gleichzeitig die Chance der Empfänger auf ein Spenderorgan, die für eine Lebendspende nicht in Betracht kommen (Cohen & Starnes, 2001).

Die Qualität des Spenderorgans beeinflusst das Ergebnis nach einer Transplantation signifikant. Die frühe postoperative Funktion korreliert eng mit dem Ausmaß von Vorschäden, Ischämiezeit und Art des Konservierungsverfahrens. Genauso spielen das Alter des Spenders, die Verwendung der Herz-Lungen-Maschine unter der Transplantation (nur bei intolerablen Kreislauf- oder Oxygenierungsverhältnissen)

und immunologische Faktoren eine Rolle (Arcasoy & Kotloff, 1999). Für die perioperative und frühe postoperative Mortalität, d.h. innerhalb eines Monats nach der Operation, wird besonders der Ischämie-Reperfusionsschaden verantwortlich gemacht. Klinisch zeigen sich eine Verschlechterung des Gasaustausches, eine verringerte Lungencompliance und nicht kardiovaskulär verursachte perihiläre Infiltrate (Stewart & Patterson, 2001).

Die Hauptursache für die langfristige Mortalität, d.h. nach Ablauf des ersten postoperativen Jahres, ist die chronische Transplantatabstoßungsreaktion, deren Pathogenese noch nicht vollständig geklärt ist. Histopathologisch äußert sich diese als Bronchiolitis-obliterans-Syndrom (BOS) bei chronischer Organdysfunktion mit reduzierten Atemvolumina (Cooper et al., 1993; Brugiere et al., 2002; Fischer et al., 2002). Durch die limitierte Ischämiezeit von ca. sechs Stunden ist es nicht möglich, eine Empfängerauswahl nach HLA-Kompatibilität zu treffen. Dies scheint ein entscheidender Faktor für eine akute Abstoßungsreaktion zu sein (Schulman et al., 1998; Arcasoy & Kotloff, 1999). Große Bedeutung wird den Komponenten HLA-DR und HLA-B des HLA-Systems zugeschrieben (Schulman et al., 1998; van den Berg et al., 2001).

Der serologische Status in Bezug auf eine Cytomegalie-Virus-Infektion muß ebenfalls vor der Organentnahme bekannt sein, um eine passende Empfängerauswahl treffen zu können. Die größte Gefährdung wird dabei für CMV-negative Empfänger bei einem CMV-positiven Spender beschrieben (Duncan et al., 1991; Keenan et al., 1991). Häufig handelt es sich bei CMV-Manifestation nach einer Transplantation auch um eine Reaktivierung bei bereits durchgemachter Infektion (Smyth et al., 1991). Der CMV-Infekt wird gemeinsam mit anderen Faktoren in Zusammenhang mit der Entstehung einer chronischen Abstoßungsreaktion gesehen, wobei Häufigkeit und Schwere der Infektionen die Inzidenz des BOS negativ beeinflussen (Keenan et al., 1991; DeMeo & Ginns, 2001).

Durch eine Ausweitung des Zeitfensters zwischen Entnahme und Transplantation könnte die Auswahl nach HLA-Kriterien durchgeführt werden und damit die kurz- und langfristige Mortalität besser kontrolliert werden. Eine möglichst geringe Belastung für das Organ durch optimierte Konservierungs- und Ischämiebedingungen sowie die optimale Empfängerauswahl nach immunologischen und infektiologischen Gesichtspunkten sollte neben dem Sektor der Immunbiologie und Gentherapie im

Mittelpunkt der zukünftigen Forschung auf dem Gebiet der Lungentransplantation stehen und könnte zu besseren Resultaten und befriedigenden Langzeitergebnissen führen.

2.5. Stand der Forschung – die Grundprinzipien der Lungenkonservierung

Bei den ersten Lungentransplantationen versuchte man mit sogenannten „on site“ Transplantationen die Ischämie so kurz wie möglich zu halten (Haverich et al., 1985). Typischerweise liegt die Ischämietoleranz einer entnommenen Lunge unter normothermen Bedingungen bestenfalls bei 30 min (Novick et al., 1992). Um diese Zeit zu verlängern, wurde schon in den sechziger Jahren die Hypothermie vorgeschlagen. Durch die Kühlung des Organs kommt es zu einer Verlangsamung des Zellmetabolismus über die Reduktion der Umsatzrate enzymkatalysierter Reaktionen. Bei den meisten Enzymsystemen kommt es bei einem Temperaturabfall um 10°C zu einer Aktivitätsminderung um das 1,5 – 2 fache des Ausgangswertes (De Perrot et al., 2003). Resultat sind ein minimaler Nährstoffbedarf und ein geringes Ausmaß der Entstehung von toxischen Metaboliten und Radikalen (Chiang et al., 1999; Kelly, 2000). Mit reiner Oberflächenkühlung konnte die tolerable Ischämiezeit so auf 1 - 2 Stunden gesteigert werden. Der zunehmende Bedarf an Spenderorganen führte jedoch schnell zu Situationen, in denen Transportzeiten von deutlich mehr als zwei Stunden zu erwarten waren. Mehrere Wege der Konservierung wurden klinisch beschritten.

1. Das Prinzip der Kernkühlung:

Mittels einer Herz-Lungen-Maschine wurde die Kernkühlung, also die homogene Abkühlung des gesamten Körpers, durchgeführt. Trotz guter Ergebnisse überwogen die Nachteile dieser Methode: ein extrem hoher Aufwand, der Bedarf einer zur Verfügung stehenden Herz-Lungen-Maschine und der durch Komplementaktivierung, bei einer relativ langen Zeit an der Herz-Lungen-Maschine, vergrößerte Reperfusionsschaden (Kirk et al., 1993).

2. Das Prinzip der Flushperfusion:

Die Perfusion des Organs über sein Blutgefäßsystem mit Konservierungslösungen im Sinne eines so genannten „single flush“ erwies sich als eine praktikable Alternativmethode mit guten klinischen Ergebnissen. Dabei fließen ca. 60 ml/kg KG einer 4 – 10°C kalten Lösung mit einem hydrostatischen Druck von ca. 20 mmHg

durch das Gefäßsystem der Lungen. Die Vorteile gegenüber einer oberflächlichen Kontaktkühlung liegen hierbei in einer homogenen Ausbreitung und der damit verbundenen raschen Senkung der Temperatur im Gesamtorgan sowie der Ausspülung von Blutzellen und Plasmabestandteilen aus dem Gefäßbett. Eine profunde Hypothermie war auch bei dieser Methode ein wesentlicher Bestandteil des Verfahrens (Haverich et al., 1985; Novick et al., 1992; Kelly, 2000).

Der Zustand des zu transplantierenden Organs wird neben der Perfusionstemperatur wesentlich durch den pH-Wert und die Zusammensetzung der Flush-Lösung nebst möglicher Adjuvantien beeinflusst. Zu beachten sind außerdem Ventilations- und Inflationszustand und Perfusionsdruck bzw. -volumen während Entnahme und Transport des Organs (Novick et al., 1992; Kelly, 2000; de Perrot & Keshavjee, 2001).

Die Lungenkonservierung muß als Gesamtheit multipler physiologischer Prozesse verstanden werden, die in den folgenden Abschnitten erklärt werden. Das Hauptaugenmerk der derzeitigen Forschung richtet sich dabei auf die Zusammensetzung der Lösungen, die Entwicklung neuer Perfusionsmethoden und medikamentöser Angriffspunkte.

2.5.1. Hypothermie

Das Endothelium der Lungengefäße reagiert sehr empfindlich auf eine Ischämie, und es kommt im Rahmen einer Transplantation zu einem so genannten Ischämie-Reperfusionsschaden, unter anderem verursacht durch einen Permeabilitätsanstieg mit daraus resultierendem Lungenödem (DeMeo & Ginns, 2001). Um eine Schädigung so gering wie möglich zu halten, wird die kalte Flushkonservierung mit einer Lösung von 4°C in den meisten Transplantationszentren angewendet.

Die Anwendung der Hypothermie ist bei der Lungentransplantation unerlässlich. Neben der vorteilhaften Suppression des Zellstoffwechsels [s. Kap. 2.5.] kann eine Hypothermie aber auch schädliche Wirkung zeigen, z.B. durch akute Vasokonstriktion, die zu einer Minderperfusion einiger Areale der Lunge führen kann und ein zelluläres Ödem verursacht (Wang et al., 1993).

Durch die Flush-Perfusion wird eine möglichst gleichmäßige und rasche Kühlung einer Spenderlunge erreicht. Dabei wird über die Pulmonalarterie in situ unter hydrostatischem Druck kalte Konservierungslösung in das gesamte Organ

perfundiert. Hierdurch werden eine Blutstase in den Gefäßen und ein Kollabieren der Pulmonalgefäße verhindert. Einem möglichen No-Reflow-Phänomen (s. u.) in der Anfangsphase der Reperfusion kann insbesondere durch die Ausschwemmung freier Mediatoren vorgebeugt werden. Aus ischämischen Blutzellen und Epithelzellen werden toxische Stoffe und Metabolite freigesetzt (Wang et al., 1993). Von Bedeutung sind z.B. freie Sauerstoffradikale, Arachidonsäuremetaboliten und Eicosatetraensäuren, aber auch Stickstoffmonoxid (NO). Aus aktivierten neutrophilen Granulozyten werden ebenso Sauerstoffradikale freigesetzt, diese spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung des mikrovaskulären Schadens im Rahmen der Reperfusion. Versuche mit Radikalenfängern und spezifischen Antikörpern für neutrophile und endotheliale Adhäsionsmoleküle zeigten, daß neutrophile Granulozyten bei der Genese des Ischämie-Reperfusionsschadens essentiell sind (Moore et al., 1995). In der Reperfusionsphase bauen die Zellen ihr Membranpotential zunehmend wieder auf und werden aktiv, hierdurch sind sie besonders vulnerabel für die Beeinflussung über Mediatoren. Vasospasmen führen zu inhomogener Verteilung des Blutes während der Reperfusion, da NO als vasodilatatives Agens nur unzureichend produziert wird. In ihrer stärksten Ausprägung führt die Spastik zum funktionellen Verschluß der Strombahn. Dieser Effekt wird als „No-Reflow-Phänomen“ bezeichnet.

Die Hämodynamik in der konservierten Lunge wird erheblich von der Temperatur der Flushlösung beeinflusst, da Kälte an sich als vasokonstriktorisches Agens einzustufen ist. In verschiedenen Studien wird die Frage nach der optimalen Flushtemperatur gestellt. Der Grad der Hypothermie wurde aus den klinischen Erfahrungen der Organkonservierung anderer Organe, z.B. Herz, Leber und Nieren, übernommen. Es soll eine ausreichend schnelle Ausspülung der Blutzellen garantiert werden (Kelly, 2000).

Eine Studie konnte zeigen, daß durch die bei 4°C höhere Viskosität einer Lösung die Passage des Lungengefäßbettes länger dauert als im Vergleich bei Temperaturen von 15 oder 25°C, ebenso wurde ein deutlich höherer pulmonal-vaskulärer Widerstand in der Reperfusionsphase bei der Flushperfusion mit 4°C gefunden. Die Folgen waren eine unvollständige Auswaschung und inhomogene Kühlung (Albes et al., 1997b).

In einer anderen Studie zeigte sich, daß pulmonale Arterien und Venen unterschiedlich auf Hypothermie reagieren (in diesem Fall bei 8°C).

Die venösen Gefäße waren deutlich vasokonstriktiv, was zu einem Anstieg des pulmonalen Kapillardruckes mit einem erhöhten hydrostatischen Druckunterschied entlang des kapillären Endotheliums und der möglichen Folge eines interstitiellen Ödems führt. Die arteriellen Gefäße waren dagegen eher dilatiert und verstärkten damit den Anstieg des Kapillardruckes. Daraus ergibt sich die Annahme, daß höhere Temperaturen ein besseres Konservierungsergebnis liefern würden (Suzuki et al., 2000a).

Durch zu starke Hypothermie wird außerdem eine Art „thermischer Schock“ von Zellen und Gewebe ausgelöst. Dieses Phänomen wurde wiederholt beschrieben, ist allerdings noch nicht ausreichend geklärt (Wang et al., 1993; Albes et al., 1997b; Kelly, 2000).

Die Antwort auf die Frage nach der optimalen Temperatur bleibt weiterhin unklar, eine bestimmte Schwellentemperatur sollte allerdings nicht wesentlich unterschritten werden, da eine pulmonale Vasokonstriktion in Verbindung mit der Beeinträchtigung der membranständigen Ionenpumpen in einem starken intraalveolären und interstitiellen Ödem resultiert. Bei zu hohen Temperaturen wird die Zellaktivität offensichtlich nicht schnell genug gehemmt, was zur Zellschädigung und Freisetzung toxischer Substanzen (s. Kap. 2.4.1.) mit daraus entstehendem Permeabilitätsanstieg und ebenfalls massivem Ödem führt.

Von mehreren Autoren wird eine Temperatur von 10°C als optimale Lagerungstemperatur beschrieben (Wang et al., 1989; Nakamoto et al., 1992; Shiraishi et al., 1994). Diese muß nicht unbedingt als optimale Flushtemperatur angenommen werden, in zahlreichen Studien wurde allerdings gezeigt, daß die Konservierung mit Lösungen bei einer Temperatur im Bereich von 10°C niedrigeren und höheren Temperaturen überlegen ist (Wang et al., 1993; Albes et al., 1997b; Kelly, 2000).

Trotz der beschriebenen negativen Einflüsse ist und bleibt die Hypothermie essentiell für erfolgreiche Lungentransplantationen. Wesentlicher Grund ist die Aktivitätsabnahme von Enzymen und die Verlangsamung von Stoffwechselreaktionen.

2.5.2. pH-Wert

Eine lokale Azidose wird als zellschädigend angesehen, neuere experimentelle Studien haben dagegen gezeigt, daß saure Lösungen für Herz und Leber auch protektive Eigenschaften haben können (Kelly, 2000). Der intrazelluläre pH-Wert spielt eine Schlüsselrolle bei der Regulation von Enzymaktivitäten und somit des Zellmetabolismus. Jedes Enzym besitzt ein Aktivitätsmaximum in einem bestimmten pH-Bereich, meist zwischen pH 4 und 9. Starke Abweichungen führen zur Denaturierung von Enzymen, Strukturproteinen und Zellbestandteilen, was einer irreversiblen Schädigung gleich kommt (Löffler & Petrides, 1997).

Eine Studie, in der Konservierungslösungen mit pH-Werten zwischen 6,6 und 8,2 miteinander verglichen wurden, zeigte die besten Resultate im Bereich zwischen einem pH von 7,4 und 7,8 (Hiramatsu et al., 1994).

Beim Vergleich von pH-Werten von 7,26, 7,75 und 7,96 in einer weiteren Studie wurde ein pH-Wert von 7,75, also im leicht alkalischen Milieu, als optimal befunden (Shiraishi et al., 1994).

Die meisten klinisch verwendeten Konservierungslösungen besitzen einen pH-Wert im neutralen bis leicht alkalischen Bereich. Der optimale Wert bleibt aber weiterhin nicht genau definiert, da auch Studien zeigen, daß eine zu starke Abpufferung der Azidose schädlich sein kann und eine therapeutische Hyperkapnie in der Reperfusionsphase sich auf einen Lungenschaden durchaus positiv auswirken kann (Laffey et al., 2000a, 2000b).

Eine weitere aktuelle Studie konnte zeigen, daß Hyperkapnie sich auf gesunde Lungen nicht schädigend auswirkt, sondern die Schädigung durch freie Radikale reduziert. Diskutiert wird eine pH-Wert-abhängige Inhibition der endogenen Xanthinoxidase, deren verschiedene Formen im Rahmen von akutem Lungenversagen, Lungenembolie und Reperfusionsschäden nach Lungentransplantation eine zentrale Rolle spielen (Shibata et al., 1998).

2.5.3. Konservierungslösungen

Eine „ideale“ Konservierungslösung muß den unterschiedlichsten Anforderungen gerecht werden und Eigenschaften besitzen, die sich aus physiologischen und pathophysiologischen Überlegungen ableiten lassen.

Die Entstehung einer intrazellulären Azidose soll verhindert werden, die hypothermiebedingte Zellschwellung abgeschwächt, Zellschäden durch freigesetzte Sauerstoffradikale aufgefangen und Substrate bereitgestellt werden, damit energiereiche Phosphate die Aufrechterhaltung des Energiestoffwechsels gewährleisten können (Haverich et al., 1985; Belzer & Southard, 1988; Belzer, 1993; Kelly, 2000).

Im wesentlichen existieren zwei Möglichkeiten, einer intrazellulären Azidose vorzubeugen, die in Kombination anwendbar sind. Ein leicht alkalischer pH-Wert der Perfusionslösung gibt dieser bereits eine gewisse Neutralisierungskapazität, weiterhin kann man Puffersubstanzen, z.B. Phosphatverbindungen, zum Perfusat hinzugeben (Belzer & Southard, 1988). Durch neuere Erkenntnisse bezüglich des pH-Optimums (s. Kap. 2.5.2.) kommt die bisherige Strategie in die Diskussion, und möglicherweise sind Änderungen auf diesem Teilgebiet zu erwarten.

Das Zellödem und extrazelluläre Flüssigkeitsansammlungen werden durch die Verwendung impermeabler Substanzen wie Dextran, Raffinose und Mannitol reduziert, die durch ihr hohes Molekulargewicht auch durch eventuell vorgeschädigte Zellmembranen mit erhöhter Permeabilität nicht durchtreten und damit den osmotischen Druck im Gefäß aufrechterhalten (Fukuse et al., 1996b; Kelly, 2000).

Die Bereitstellung von Ausgangsstoffen für die Produktion energiereicher Phosphate, deren Konzentration während der Ischämieperiode absinkt, kann beispielsweise durch den Zusatz von Adenosin erfolgen (Gao et al., 1991; Kirk et al., 1993).

Substanzen mit antioxidativer Wirkung zur Abpufferung der während der Hypoxie als auch während der Reperfusionsphase entstehenden freien Radikale müssen in einer „idealen“ Perfusionslösung ebenfalls enthalten sein. Verwendet werden unter anderem Glutathion als endogenes Antioxidans oder Inhibitoren der Xanthinoxidase wie z.B. Allopurinol oder Lodoxamid (Kirk et al., 1993; Kelly, 2000).

Die momentan verwendeten Lösungen wurden entweder empirisch aus der Konservierungspraxis anderer Organe übernommen oder speziell für die Anforderungen der Lunge entwickelt.

Einen Überblick über eine Auswahl der gängigsten Lösungen und deren Zusammensetzung liefert die folgende tabellarische Aufstellung (Tab. 2.5.3.).

Komponenten	Einheit	EC	UW	LPD	Perfadex®	ET-Kyoto	Celsior®
Na ⁺	mmol/l	10	20	168	138	100	100
K ⁺	mmol/l	115	140	4	6	44	15
Mg ²⁺	mmol/l	2	5	2	0,8		13
Ca ²⁺	mmol/l						
Cl ⁻	mmol/l	15		103	142		41,5
HCO ³⁻	mmol/l	10					
PO ₄ ²⁻	mmol/l	58	25	37	0,8	25	
Glucose	g/l	35			0,91		
Dextran 40	g/l			20	50		
Glutamat	mmol/l					100	20
Raffinose	mmol/l		30				
Laktobionat	mmol/l		100				80
HES	g/l		50			30	
Allopurinol	mmol/l		1				
Adenosin	mmol/l		5				
Gluthathion	mmol/l		3				3
Trehalose	mmol/l					120	
Mannitol	mmol/l						60
Histidin	mmol/l						30
Insulin	U/l		40				
Dexamethason	mg/l		16				

[Tab. 2.5.3.] Lungenkonservierungslösungen

EC = Euro-Collins

UW = University of Wisconsin Solution

LPD = Low Potassium Dextran Solution

ET-Kyoto= Extracellular Type Trehalose Kyoto Solution

HES = Hydroxyäthylstärke

Die Euro-Collins-Lösung ist eine hyperosmolare Lösung vom sogenannten „intrazellulären Typ“, die Ionenzusammensetzung entspricht somit der des Intrazellularraumes. Hierdurch soll der osmotische Gradient zwischen intravaskulärem und intrazellulärem Kompartiment möglichst gering gehalten werden, womit die Flüssigkeitsverschiebungen zwischen Pulmonalgefäßen und Lungenparenchym verhindert oder minimiert werden.

Ursprünglich wurde sie für die Nierenkonservierung entwickelt und 1969 das erste Mal zu diesem Zweck vorgestellt (Collins et al., 1969; Collins & Wicomb, 1992). Im Jahre 1986 wurde bei Primaten die erste erfolgreiche Herz-Lungen-Transplantation unter Verwendung der Euro-Collins-Lösung durchgeführt (Starkey et al., 1986). Schon ein Jahr später wurde auch die klinische Anwendung dieser Lösung eingeführt, zunächst bei Herz-Lungen-Transplantationen (Baldwin et al., 1987).

Durch die Angleichung an die intrazelluläre Ionenverteilung werden transmembranöse Ionenverschiebungen minimiert, wobei vor allem der Kaliumverlust aus den konservierten Zellen limitiert wird. Dieser Mechanismus begrenzt das Ausmaß des intrazellulären Ödems (Collins et al., 1969). Als einzige impermeable Substanz dient bei der Euro-Collins-Lösung Glucose, die während der Ischämiephase gleichzeitig als Energielieferant dient. Erst durch den Zusatz von Glucose konnten an Hunden Versuche mit dauerhaften Überlebenszeiten nach Einzellungentransplantation durchgeführt werden (Haverich et al., 1985). Bicarbonat und Phosphat dienen als Puffersubstanzen und neutralisieren die unter Ischämie entstehende metabolische Azidose. Der hohe Kaliumgehalt der Euro-Collins-Lösung wird neben der niedrigen Flushtemperatur von 4°C für die beobachtete pulmonale Vasokonstriktion und damit eine inhomogene Perfusatverteilung verantwortlich gemacht (Kimblad et al., 1991). Deshalb wurde dazu übergegangen, vasodilatatorisch wirksames Prostaglandin oder Prostazyklin vor der Flushperfusion intravenös zu verabreichen (Harjula et al., 1987; Jurmann et al., 1987; Wahlers et al., 1991; Hirt et al., 1992). Im Jahre 1997 verwendeten noch 77 % der Transplantationszentren weltweit die Euro-Collins-Lösung. In 69 % der Zentren wurde die Konservierung in Kombination mit Prostaglandintherapie durchgeführt, wohingegen 32 % der Zentren eine Steroidtherapie des Spenders bevorzugten (Hopkinson et al., 1998).

Die UW-Lösung wurde 1986 an der University of Wisconsin, Madison/USA von Belzer und Mitarbeitern entwickelt und ist ebenfalls eine Lösung vom intrazellulären Typ. In den folgenden Jahren hatte sie einen zunehmend größer werdenden Einfluß auf die Organkonservierung bei Transplantationen. Die experimentelle und klinische Anwendung konnte innerhalb von fünf Jahren von Pankreas auch auf Niere, Leber und Herz ausgedehnt werden (Hoffman et al., 1988; Kalayoglu et al., 1988; Ploeg et al., 1988; Swanson et al., 1988).

Nachdem auch tierexperimentelle Versuche mit Lungen zeigten, daß die Konservierung mit UW-Lösung dem bisherigen Standardverfahren der Flushperfusion mit Euro-Collins-Lösung überlegen ist (Kawahara et al., 1991; Naka et al., 1991; Bresticker et al., 1992), konnte schließlich 1991 die UW-Lösung auch bei der humanen Lungentransplantation eingeführt werden (Hardesty et al., 1993). Die Zusammensetzung der UW-Lösung ist durchaus komplexer als die Euro-Collins-Lösung, neben den Elektrolyten sind zusätzlich antiödematöse Substanzen, Antioxidantien und energiereiche Substrate enthalten. Wichtigste impermeable Substanz scheint die Laktobionsäure zu sein, ein großes anionisches Molekül, das die hypothermieinduzierte Zellschwellung wesentlich reduziert (Southard et al., 1990; Urushihara et al., 1992). Eine weitere impermeable Substanz ist das Trisaccharid Raffinose, welches eine stärkere onkotische Potenz als Glukose besitzt, die bei der Euro-Collins-Lösung verwendet wird (Yu et al., 1990; Marshall et al., 1991). Als kolloidalen Bestandteil besitzt die UW-Lösung Hydroxyäthylstärke (HES), die neben ihrer onkotischen und damit antiödematösen Wirkung insbesondere durch die Viskositätserhöhung eine homogene Verteilung im perfundierten Organ bewirkt. Die Stärke verhindert außerdem eine Extravasation der Perfusionslösung und damit ein interstitielles Ödem. Gluthathion als weiterer Bestandteil ist bereits physiologischerweise in den Zellen vorhanden und spielt eine entscheidende Rolle als Antioxidans zur Abpufferung des oxidativen Stresses in der Lunge (Kelly, 1999). Die Sulfhydrylgruppe des Gluthathion wirkt als Elektronendonator und kann damit beispielsweise Hydroperoxide von Makromolekülen wie Enzymen und Membranproteinen reduzieren, die z.B. in Erythrozyten ständig entstehen und die Funktion dieser Makromoleküle beeinträchtigen. Spezifische Enzymsysteme reduzieren das nach diesem Vorgang oxidiert vorliegende Gluthathion und stellen es damit erneut als Antioxidans zur Verfügung (Löffler & Petrides, 1997). Unter Hypoxiebedingungen wurde eine Abnahme des intrazellulären Gluthathions bei kultivierten Endothelzellen von Pulmonalarterien gefunden (Bhat & Block, 1992; Bhat et al., 1992). Daher kann jede prolongierte Ischämie oder Hypoxie während der Lungenentnahme die Gewebsgluthathionkonzentration verringern, wodurch die Membranintegrität bei einer verringerten antioxidativen Kapazität gefährdet ist und Permeabilitätsveränderungen während der Reperfusionsphase zu einem stärkeren Ischämie-Reperfusions-Schaden führen können (Chang et al., 1992; Lu et al., 1993).

In mehreren Studien sind positive Effekte durch den Zusatz von Antioxidantien beobachtet worden (Nezu et al., 1994; Baker et al., 1999; Chiang, 2001). Das Allopurinol inhibiert als weiterer Inhaltsstoff der UW-Lösung im Sinne eines Strukturanalogen von Hypoxanthin die Aktivität der Xanthinoxidase. Während der Reperfusionsphase der transplantierten Lunge katalysiert dieses Enzym die Umwandlung molekularen Sauerstoffes in toxische Sauerstoffradikale, durch die Enzymhemmung wird der durch diesen Mechanismus vermittelte Reperfusionsschaden reduziert (Hajjar et al., 1986; Aiba et al., 1992; Lambert & Egan, 1992; Chiang et al., 1998).

Durch die Zugabe von Adenosin wird dem transplantierten Organ ein Ausgangsstoff für die Synthese energiereicher Phosphate geliefert. Adenosin wird intrazellulär umgehend zu Adenosintriphosphat umgewandelt und dient beispielsweise auch der ATP-abhängigen $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ als Substrat. Eine Studie, in der die intrazellulären ATP-Konzentrationen nach Konservierung mit Euro-Collins-Lösung, UW-Lösung und einer kaliumarmen Dextranlösung verglichen wurden, zeigte einen signifikant höheren ATP-Gehalt bei Verwendung der UW-Lösung (Omote et al., 1994).

Weitere Additiva umfassen das Insulin, das den Kaliumeinstrom in die Zelle erhöht, Phosphatpuffer zur Verminderung der Gewebsazidose, Dexamethason mit seinen entzündungshemmenden Wirkungen und Magnesium als membranstabilisierenden Faktor und Cosubstrat (Kirk et al., 1993).

Der hohe Gehalt an Kalium der oben beschriebenen „intrazellulären“ Lösungen wird für eine Vasokonstriktion während des Flushs und eine inhomogene Verteilung des Perfusates im Organ verantwortlich gemacht (Kimblad et al., 1991; Fukuse et al., 1996a). Nachdem eine Kaliumkonzentration im Bereich von 40 mmol/l in zahlreichen Studien zu besseren Konservierungsergebnissen führte, wurde der Begriff der „kaliumarmen extrazellulären“ Lösungen eingeführt. Zunächst verwendete man die sogenannte „modifizierte Euro-Collins-Lösung“ oder „modifizierte UW-Lösung“ (Sasaki et al., 1995; Fukuse et al., 1996a; Albes et al., 1997a; Bando et al., 1998). Neuere Studien konnten in Zellkulturversuchen zeigen, daß sich die geringere Kaliumkonzentration dieser „extrazellulären“ Lösungen günstig auf die Aktivität der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ in den Alveozyten auswirkt. Dies vermag die geringere Neigung zur Ödembildung in Verbindung mit weiteren Faktoren erklären (Suzuki et al., 2000b).

Aus den Erfahrungen mit den „extrazellulären“ Lösungen entstand nach zahlreichen experimentellen Versuchen die „Low-Potassium-Dextran-Solution“ (LPD-Lösung) als Alternative zur Euro-Collins- oder UW-Lösung. Bereits Mitte der achtziger Jahre berichtete eine Studie aus Japan über die Vorteile einer kristalloiden, der extrazellulären Ionenzusammensetzung entsprechenden Lösung, gegenüber den bis dahin verwendeten Konservierungslösungen (Fujimura et al., 1987). In Toronto, Kanada, wurde schließlich die LPD-Lösung eingeführt und durch zahlreiche vergleichende Tierexperimente gegenüber einer Konservierung mit Euro-Collins-Lösung als überlegen eingestuft (Keshavjee et al., 1989; Yamazaki et al., 1990). Trotz anfänglichem Enthusiasmus konnte aber gezeigt werden, daß mit Euro-Collins-Lösung in Kombination mit Prostaglandin E1 äquivalente Ergebnisse im Vergleich zur LPD-Lösung erreichbar sind, weshalb dies in den meisten Transplantationszentren weiterhin die Standardmethode blieb (Puskas et al., 1992). Die LPD-Lösung hat mit nur 4 mmol/l einen sehr niedrigen Kaliumgehalt, der noch geringer als der des Extrazellularraumes ist. Hierdurch besitzt die LPD-Lösung eine geringe vasospasmogene Potenz und begünstigt eine möglichst homogene Perfusatverteilung (Kimblad et al., 1994; Albes et al., 1997a).

Als impermeable Substanz ist in dieser Lösung Dextran enthalten (MG 40000), dessen positive Eigenschaften in der Verbesserung des mikrovaskulären Flows liegen. Dies wird durch coating von Erythrozyten und Erhöhung ihrer Verformbarkeit vermittelt, welche in einer Disaggregation der Erythrozyten im Blutstrom resultiert. Weitere antithrombotische Effekte scheinen durch coating von Thrombozyten und Endothelzellen zu entstehen (Sakamaki et al., 1997; Chien et al., 2000). Aus der Kombination dieser Komponenten in Verbindung mit der antiödematösen Wirkung wird die Bedeutung dieser Substanz für die Lungenkonservierung erklärt (Chien et al., 2000). Bei der ursprünglichen LPD-Lösung wurde auf den Zusatz von Glukose verzichtet, da diese sich in der Leber oder der Bauchspeicheldrüse nicht als impermeabel zeigte. Glukose wird in den Zellen unter anaeroben Bedingungen zu Laktat metabolisiert, dies führt zu einer Gewebsazidose. Da aus grundlegenden Experimenten aber die Erkenntnis erlangt wurde, daß eine sauerstoffgefüllte Lunge durchaus zum aeroben Glukosemetabolismus befähigt ist, konnte angenommen werden, daß Glukose als Zusatz zur LPD-Lösung als Energiesubstrat sinnvoll sei.

In mehreren Tierexperimenten konnte dies bestätigt werden, daher hat sich Glukose als Zusatz zur LPD-Lösung etabliert (Date et al., 1993). In Experimenten mit modifizierter LPD-Lösung wurde auch die Zugabe von Raffinose, einem natürlichen Trisaccharid, untersucht. Raffinose hat antiödematöse Eigenschaften, da sie impermeabel ist und nicht metabolisiert wird. In ultrastrukturellen Untersuchungen konnten zytoprotektive Eigenschaften mit verminderter Zellschädigung der Alveozyten nachgewiesen werden. Durch die Herstellung einer Konzentration von 30 mmol/l wurde eine signifikante Verbesserung der Transplantatfunktion an einem etablierten Rattenmodell beobachtet, weshalb dieser Mechanismus in der Zukunft weiterer Evaluierung bedarf (Fischer et al., 2000a, 2001). Weitere Inhaltsstoffe sind Phosphatpuffersubstanzen und Magnesium als membranstabilisierender Faktor und Co-Substrat. Eine kommerzielle LPD-Lösung ist unter dem Namen Perfadex[®] erhältlich. Neben geringen Abweichungen in der Elektrolytzusammensetzung ist der Dextrananteil auf 5 % angehoben, so daß der kolloidosmotische Druck des Blutplasmas ungefähr verdoppelt wird (Spaggiari & Bobbio, 1994). Als Energiesubstrat dient eine einprozentige Konzentration an Glukose. Nach erfolgreichen tierexperimentellen Versuchen (Steen et al., 1994; Ingemansson et al., 1995) konnte auch in der klinischen Anwendung eine deutlich geringere Schädigung und daraus resultierend eine verbesserte Transplantatfunktion bei Verwendung von Perfadex[®] beobachtet werden (Muller et al., 1999). Neuere Studien untersuchten den Einsatz von weiteren Zusatzstoffen, z.B. Raffinose oder auch ACE-Hemmern (Captopril), wodurch tierexperimentell weitere Verbesserungen der Konservierungsqualität nachgewiesen werden konnten (Fischer et al., 2000a, 2000b).

In Japan wurde währenddessen eine weitere extrazelluläre Konservierungslösung entwickelt, die ET-Kyoto-Lösung. Als impermeable Substanzen dienen das Disaccharid Trehalose, Gluconsäure und Hydroxyäthylstärke mit ihren bereits beschriebenen antiödematösen Eigenschaften (Hirata et al., 1994; Hirata et al., 1996). Im Rahmen der Weiterentwicklung dieser Lösung wurden unter anderem Versuche mit der Zusetzung von Nitroglycerin und cAMP durchgeführt, um durch eine Anhebung der intrazellulären NO/cGMP- und cAMP-Spiegel eine pulmonale Vasodilatation zu erreichen. NAC, ein Sauerstoffradikalfänger, wurde ebenfalls als Zusatz verwendet, insgesamt konnte ein Vorteil der sogenannten „neuen“ ET-Kyoto-

Lösung im Vergleich zu ihrer unveränderten Form festgestellt werden (Liu et al., 1996).

Das neueste extrazelluläre Perfusat wurde zunächst für die Herztransplantation entwickelt und ist unter der Bezeichnung Celsior® im Handel erhältlich. Bei Betrachtung der Inhaltsstoffe erscheint Celsior® aber für die Anwendung bei der Lungenkonservierung außerordentlich geeignet, da die bekannten Angriffspunkte zur Verhinderung einer Transplantatschädigung während der Ischämiephase in dieser Lösung vereint zu sein scheinen. Der geringe Kaliumgehalt verspricht ein nur geringes vasokonstriktorisches Potential für die pulmonale Strombahn, antiödematöse Eigenschaften besitzen das enthaltene Mannitol und Laktobionat, als Radikalfänger und Puffersubstanzen dienen reduziertes Glutathion, Histidin und Mannitol, als energiereiches Substrat ist Glutamat beigefügt, und einer Kalziumüberladung wird durch den hohen Magnesiumgehalt und einen leicht azidotischen pH-Wert vorgebeugt (Menasche et al., 1994; Xiong et al., 1999). Nachdem erste Versuche an Kleintiermodellen mit Vergleichen zwischen Celsior® und den intrazellulären Lösungen eine bessere Konservierungsqualität erbrachten und im Vergleich mit anderen extrazellulären Lösungen gleichwertige Ergebnisse erzielt werden konnten (Reignier et al., 1995; Roberts et al., 1999; Wittwer et al., 1999a), wurde dies auch in Großtierversuchen und der klinischen Erprobung bestätigt (Thabut et al., 2001; Baron et al., 2002). Durch den Einsatz von Prostazyklin und eine Erhöhung der Perfusionstemperatur auf 15°C konnte im Tiermodell eine weitere Verbesserung der Konservierungsqualität durch Celsior® festgestellt werden (Wittwer et al., 1999b). Nach diesen vielversprechenden ersten Erfahrungen mit Celsior® sind weitere experimentelle Studien nötig, ebenso sind die ersten Langzeitergebnisse nach klinischer Anwendung abzuwarten.

2.5.4. Retrograde Perfusion

Während die Verbesserung von Konservierungslösungen und die Entwicklung von medikamentösen Therapieansätzen in zahlreichen Studien untersucht wurden, stand die Entwicklung alternativer Perfusionstechniken eher im Hintergrund. In den neunziger Jahren wurden die ersten experimentellen und klinischen Anwendungen der retrograden Perfusion beschrieben (Sarsam et al., 1993; Baretti et al., 1995).

Bei der antegraden Perfusion wird nur die pulmonale Strombahn der Lunge perfundiert, wohingegen die so genannten Vasa privata der Lunge, die Bronchialgefäße, nicht durch Flushperfusion konserviert sind.

Bei der retrograden Perfusion erfolgt der Flush über den linken Vorhof durch die Pulmonalvenen in das venöse Gefäßsystem. Das Gemisch aus Konservierungslösung und Blut verläßt das pulmonale Gefäßsystem hauptsächlich durch die Pulmonalarterie. Im bronchialen Versorgungsgebiet liegen neben den intra- und extrapulmonalen Luftwegen auch neurovaskuläre Bündel, lymphatische Strukturen und die viszerale Pleura. Das venöse System der Lunge hat einen geringen vaskulären Widerstand und gleichzeitig eine hohe Aufnahmekapazität, damit kommt es bei der Perfusion mit einer kalten Lösung nur zu einer gering ausgeprägten pulmonalen Vasokonstriktion. Dies bewirkt eine homogenere Verteilung der Konservierungslösung als bei antegrader Perfusion (Varela et al., 1997). In einer Studie an Hunden konnte bei Verwendung von Euro-Collins-Lösung ein milderer Ausmaß an pulmonalem Ödem, eine bessere Oxygenierungskapazität und ein geringerer Atemwegswiderstand bei Anwendung der retrograden Perfusion gefunden werden (Chen et al., 1996). In einer weiteren Studie der gleichen Arbeitsgruppe konnte dies auch für die UW-Lösung bestätigt werden (Chen et al., 1997).

Neuere Studien bestätigen die hohen Erwartungen auch im Großtierversuch. An Schweinen wurde neben den Lungenfunktionsparametern auch die Surfactantfunktion bei Anwendung von LPD-Lösung untersucht. Die retrograde Perfusion ergab eine weniger starke Schädigung in Bezug auf Transplantatfunktion und Surfactantgehalt (Strüber et al., 2002).

Die Einbeziehung der Vasa privata der Lunge findet auch in einer weiteren Technik Beachtung. Dabei erfolgt die zusätzliche Perfusion des Bronchialgefäßsystems nach Entnahme in konventioneller Technik vor der Lagerung. Auch hier sind die Ergebnisse der alleinigen antegraden Perfusion überlegen (Venuta et al., 1999).

2.5.5. Perfusionsdruck und –volumen

Theoretischen Überlegungen zufolge soll die Flushperfusion eine möglichst schnelle und vollständige Auswaschung von Blutbestandteilen aus dem Lungengefäßbett

gewährleisten und möglichst rasch das Gesamtorgan abkühlen (Kirk et al., 1993). Die Perfusionsvolumina und Flußraten lassen sich jedoch nicht beliebig erhöhen, da eine direkte Schädigung von Endothelzellen bei zu hohen pulmonalarteriellen Drücken auftritt bzw. eine druckbedingte Vasokonstriktion das Resultat sein kann (Sasaki et al., 1996a). In einer Studie wurde beim Vergleich unterschiedlicher Perfusionsdrücke eine Hemmung der endogenen NO-Produktion bei Drücken über 20 mmHg festgestellt (Tanaka et al., 1998). Eine weitere vergleichende Studie untersuchte die Konservierungsqualität nach Flushperfusion mit Drücken von 5, 10, 15, 20 bzw. 25 mmHg, hierbei zeigten sich im Bereich zwischen 10 - 15 mmHg die besten funktionellen Resultate, wobei niedrigere Drücke eine unvollständige Auswaschung zur Folge hatten (Sasaki et al., 1996a). Der beim Flush erreichte Druck ändert sich auch mit dem Inflationszustand der Lunge (s. 2.5.6.).

2.5.6. Ventilation und Inflation

Es hat sich gezeigt, daß die Art der Ventilation während der Flushperfusion erheblichen Einfluß auf die Konservierungsqualität und damit auf das Langzeitergebnis hat (Haverich et al., 1985). Durch die kontinuierliche Beatmung während der Entnahme kommt es zur mechanischen Entfaltung der Lunge, dies senkt wiederum den pulmonal-vaskulären Widerstand (PVR) und macht eine gleichmäßige Verteilung des Perfusates bei geringen pulmonal-vaskulären Drücken möglich (Veith et al., 1971; Haverich et al., 1985; Baretti et al., 1995).

Für den Zeitraum der Lagerung bzw. des Transportes ist die Entfaltung der Lunge ebenfalls von Bedeutung. Tierexperimentelle Studien konnten wiederholt zeigen, daß Lungen während einer Ischämiephase deutlich länger gute Oxygenierungsleistungen erbringen, wenn sie währenddessen ventiliert werden (Homatas et al., 1968; Veith et al., 1971; Badellino et al., 1989). Es wurde weiterhin gezeigt, daß eine statische Inflation der Lungen während der Lagerung der kontinuierlichen Beatmung nicht unterlegen ist und dabei technisch weitaus einfacher durchführbar ist (Veith et al., 1971; Hausen et al., 1996). Im kollabierten Zustand kommt es durch die entstandenen Atelektasen zu einer verminderten Surfactantproduktion und einer gesteigerten Aktivierung von neutrophilen Granulozyten. Folge ist eine gesteigerte Gefäßpermeabilität mit der Ausbildung eines intraalveolären Ödems, dessen Ausmaß mit der Ischämiedauer korreliert (Hausen et al., 1996).

Von Bedeutung ist auch die Zusammensetzung des Gasgemisches während des Inflationszustandes, da die Lunge durchaus zu einem gewissen aeroben Metabolismus während der Ischämiezeit fähig ist (Kelly, 2000). Die Füllung mit reinem Sauerstoff zeigte sich als überlegen gegenüber Raumluft oder reiner Stickstoffinflation (Weder et al., 1991). Im Gegensatz dazu wurde in anderen Untersuchungen auf einen zur Sauerstoffkonzentration korrelierenden Anstieg der Kapillarpermeabilität hingewiesen, der durch den entstehenden oxidativen Streß bei exzessivem Sauerstoffangebot verursacht wird (Haniuda et al., 1996).

Aus Versuchen mit der Hyperinflation von Lungen während der Lagerung ergab sich eine schlechtere Organfunktion als bei physiologischen Druckwerten. Ursache scheint die mechanische Schädigung der Lungenkapillaren zu sein, resultierend in einer vermehrten Ödemneigung bei erhöhter vaskulärer Permeabilität (Aoe et al., 1996). Als optimal wird deshalb ein Inflationsvolumen angesehen, daß mit physiologischen Inflationsdrücken erreicht wird. Die Beatmung mit einer FiO₂ von 100 % hat sich als schädigend erwiesen, weshalb in der klinischen Anwendung derzeit üblicherweise Sauerstoffkonzentrationen zwischen 30 und 40 % eingesetzt werden (Kelly, 2000).

2.5.7. Medikamentöse Beeinflussung bei der Lungenkonservierung

Eine Schlüsselkomponente, um die Lungenfunktion bei Transplantationen zu erhalten, ist die Sicherung der endothelialen Integrität und metabolischen Fähigkeiten. Das primäre Transplantatversagen beinhaltet zahlreiche durch Leukozyten und freie Sauerstoffradikale vermittelte Pathomechanismen.

Verschiedene Möglichkeiten, diese Vorgänge medikamentös zu beeinflussen, waren Gegenstand der Forschung auf diesem Gebiet. Klinisch anwendbar sind eine Vorbehandlung des Spenders, entweder inhalativ oder intravenös, verschiedenste Additiva zu den Konservierungslösungen und zahlreiche Therapieansätze in der Reperusionsphase, während und nach Transplantation.

Durch die Flushperfusion mit einer kalten Lösung kommt es im Organ zu einer starken Vasokonstriktion, die entweder durch direkte Vasodilatoren oder Hemmung der endogenen vasokonstriktorisches wirksamen Mechanismen vermindert werden kann.

Das Hauptaugenmerk richtet sich auf die endogenen Substanzen NO und Prostazyklin. NO ist ein selektiver, potenter pulmonaler Vasodilatator und inhibiert Interaktionen zwischen Leukozyten und Endothelzellen. Durch die Ischämie kommt es zur Verminderung der endogenen NO- und cGMP-Konzentrationen, die sich in der Reperfusionsphase durch den erhöhten pulmonalvaskulären Widerstand sowie erhöhte Spiegel an freien Sauerstoffradikalen, Zytokinen und Endothelin-1 bemerkbar machen. Folgen sind pulmonale Hypertension, Thrombozytenaggregation und Leukozytensequestration, mit dem Resultat eines akuten Lungenschadens und Zelluntergangs (De Perrot et al., 2003). NO hat selbst das Potential, die Konzentration an freien Radikalen zu erhöhen, wodurch die unterschiedlichen Resultate verschiedener Studien erklärbar sind, da der Zeitpunkt der NO-Applikation eine große Rolle zu spielen scheint (Karamsetty & Klinger, 2002). Mögliche Varianten sind die Gabe von L-Arginin, einer molekularen Vorstufe, und die Erhöhung des cGMP-Spiegels. Die Applikation von exogenem NO kann entweder inhalativ (Bhabra et al., 1997a; Murakami et al., 1997) oder intravenös erfolgen. Dabei können NO-Donatoren wie FK409 (Takeyoshi et al., 2000), Nitroprussid-Natrium (Yamashita et al., 1996), Glyzerintrinitrat (Bhabra et al., 1997b), Nitroglyzerin (Kayano et al., 1999) oder SIN-1 (Clark et al., 1999) verwendet werden. Eine Studie zeigte toxische Effekte bei Gabe zu Beginn der Reperfusion im Rahmen der Bildung von Peroxynitriten [s. Kap. 2.4.1.], aber einen positiven Effekt bei Gabe nach 4 Stunden durch reversible Einflüsse auf die Minderperfusion und Reduktion der Neutrophilensequestration (Eppinger et al., 1995).

Deshalb erscheint die Verabreichung von cGMP-Analoga, z.B. 8-Br-cGMP sinnvoll, da es nicht zur Bildung von Peroxynitrit kommt. Die Resultate einer Studie zeigten ebenfalls verminderte vaskuläre Widerstände, verbesserte Oxygenierungsleistungen und geringer ausgeprägte Neutrophilensequestrationen (Pinsky et al., 1994).

Eine weitere Möglichkeit, der Vasokonstriktion zu begegnen, besteht in der Nutzung endogener Vasodilatoren wie Prostazyklin, dessen Wirkung über den second messenger cAMP vermittelt wird. Versuche mit cAMP-Analoga führten zur Senkung der Lungenschädigung, und auch der Einsatz eines Phosphodiesterasehemmers, Rolipram, zeigte diese Effekte durch eine Hemmung des intrazellulären cAMP-Abbaus (Hoffmann et al., 2001).

Mit dem Prostaglandin E1 wurde ein weiterer endogener und sehr potenter Vasodilatator eingesetzt, der vor allem in hohen Dosen die kaliumvermittelte

Vasokonstriktion „intrazellulärer“ Konservierungslösungen zu mildern vermochte. Mit der Einführung der kaliumarmen Lösungen ist die Anwendung allerdings in die Diskussion geraten, da die kaliumvermittelte Vasokonstriktion nur noch gering ausgeprägt ist (Kelly, 2000). Allerdings verschiebt Prostaglandin das proinflammatorische Zytokinprofil mit TNF- α , IFN- γ und IL-12 zu einem eher antiinflammatorischen Profil mit erhöhten IL-10-Werten und hemmt die Thrombozytenaggregation. Weitere prospektive Studien sind nötig, um die Rolle der Prostaglandintherapie in der Zukunft zu bestimmen, da auch schädliche Effekte bekannt sind (de Perrot et al., 2001; de Perrot et al., 2003).

Neben den Vasodilatoren kommen zahlreiche Radikalfänger zum Einsatz, z.B. in Perfusionslösungen (Gluthathion, Tocopherol). Als Hemmstoff der Xanthinoxidase, die wesentlich an der Produktion freier Radikale beteiligt ist, kommt Allopurinol zum Einsatz [s. Kap. 2.4.1.]. Neuere Substanzen sind die Lazaroide, die mit ihrer hemmenden Wirkung auf die Lipidperoxidation die Endothelintegrität zu erhalten vermögen. Durch den Zusatz des synthetischen Lazaroides U74389G, konnte die vaskuläre Funktion in einem experimentellen Modell verbessert werden (Sasaki et al., 1996b).

Beim Einsatz von Glukokortikoiden erfolgt die Nutzung der antiinflammatorischen und leukozytenstabilisierenden Eigenschaften. Sie verhindern die komplementvermittelte Neutrophilenaggregation und setzen die Produktion von lysosomalen Enzymen und Superoxidanionen durch Neutrophile herab (Hall et al., 1988).

Durch bessere Kenntnisse des Ablaufs der Entzündungsreaktion und den dabei freigesetzten Zytokinen bieten sich spezifische Eingriffsmöglichkeiten in diese Vorgänge. In Experimenten mit dem synthetischen PAF-Antagonisten FR128998 konnten eine geringere Thrombozytenaggregation und Neutrophilensequestration mit daraus resultierender Abschwächung des Lungenschadens nachgewiesen werden (Iwazaki et al., 2001). In der klinischen Anwendung konnte dies an einer kleinen Patientenkohorte für hohe Dosen auch bestätigt werden, diesmal mit dem PAF-Antagonisten BN 52021 (Wittwer et al., 2001).

Die spezifische Hemmung von TNF- α und Interleukin-1, zwei hochinflammatorischen Zytokinen, die an der Entstehung des Lungenschadens wesentlich beteiligt sind, erbrachte in tierexperimentellen Experimenten eine Verbesserung der Transplantatfunktion (Kamoshita et al., 1997; Aiba et al., 2000).

Ein weiterer immunologischer Aspekt ist die Hemmung des Komplementsystems, das im Sinne einer Sofortreaktion bei Beginn der Reperfusion aktiviert wird und die Entzündung durch Neutrophilenaktivierung verstärkt und gleichzeitig eine direkte Schädigung über die Komplementfaktoren auslöst. In Versuchen mit löslichen Komplementrezeptoren konnte durch Applikation kurz vor der Reperfusion eine deutliche Verbesserung der postoperativen Organfunktion festgestellt werden (Stammberger et al., 2000; Stammberger et al., 2002).

Neben der vasodilatatorischen und antiinflammatorischen Beeinflussung rückte die Betrachtung der Surfactantfunktion unter der Transplantation in den letzten Jahren ebenfalls in den Vordergrund. Die intakte Surfactantfunktion ist für die kurz- und langfristigen Ergebnisse nach einer Lungentransplantation von wesentlicher Bedeutung. Versuche mit endobronchialer Surfactantapplikation erbrachten in der klinischen Erprobung vielversprechende Ergebnisse (Strüber et al., 1999).

Zusammenfassend ist zu bemerken, daß durch bessere pharmakologische Beeinflussung des Ischämie-Reperfusions-Schadens in den nächsten Jahren die größten Fortschritte auf dem Gebiet der Lungentransplantation zu erwarten sind und bessere Langzeitergebnisse ermöglicht werden können.

3. Ziele der Arbeit

An einem extrakorporalen Lungenreperusionsmodell der Ratte sollten die Einflüsse der Ischämiezeit sowie moderner Konservierungslösungen auf den Ischämie-Reperusions-Schaden untersucht werden.

In der klinischen Anwendung liegen die Ischämiezeiten für die Lungentransplantation zwischen 4 und 8 Stunden, weshalb in dieser Arbeit Intervalle von 4 und 6 Stunden Ischämie gewählt wurden. Besonderes Augenmerk richtete sich auf ein mögliches differentes Verhalten der modernen Konservierungslösungen Celsior® und Perfadex® bei verschiedenen Ischämiezeiten.

Nachdem sich Dextran im Einsatz zur Lungenkonservierung durch seine vorteilhaften Effekte auf ein zelluläres Ödem und die rheologischen Eigenschaften während der Perfusion bewährt hat, sollte untersucht werden, wie sich die Zugabe von Dextran zur Celsior®-Lösung auswirkt.

Die Vorteile der retrograden Perfusion [s. Kap. 2.5.4.] wurden bereits für Perfadex® untersucht, in dieser Studie sollten die Effekte bei Verwendung von Celsior® bei einer Ischämiezeit von 6 Stunden evaluiert werden.

4. Material und Methodik

4.1. Tierexperimentelles Modell

Für die Experimente wurde ein extrakorporales Lungenperfusionsmodell der Ratte gewählt. Es dient als kostengünstige Screeningmethode im Vorfeld von Großtierversuchen und der Erprobung am Menschen.

Verwendet wurden männliche Albinoratten vom Stamm Sprague Dawley (Charles River WIGA GmbH, Sulzfeld, Deutschland) mit einem Körpergewicht zwischen 400 und 500 g und einem Alter von 2 - 3 Monaten.

Die Versuchstiere wurden im offenen System gehalten (Raumtemperatur: 18 - 23°C, Luftfeuchtigkeit: 45 – 60 %, Hell-Dunkel-Beleuchtungsrythmus: L:D = 12:12 Stunden).

Es befanden sich jeweils 5 Tiere in einem Käfig (Typ M4, Firma Ehret, Emmendingen, Deutschland). Die Ratten erhielten pelletiertes Futter (Ratte/Maus Haltung Altromin 1326, Firma Altromin, Lage, Deutschland) sowie Leitungswasser ad libitum.

Alle Tiere wurden nach den Empfehlungen der National Society for Medical Research („Principals of Laboratory Animal Care“) und den Richtlinien der National Academy of Science („Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“, NIH publication No. 86-23, revidiert 1985) mit der notwendigen Sorgfalt behandelt.

Außerdem wurde ein Tierschutzantrag bei der zuständigen Behörde der Friedrich-Schiller-Universität Jena geprüft und genehmigt.

Die anästhesierten Ratten wurden unter ständiger maschineller Beatmung (Kleintierrespirator: SAR 830/P, Firma IITC INC. Life Science Instruments, Woodland Hills, CA, USA) präpariert. Als Beatmungsparameter waren an dem Gerät ein Atemzugvolumen von 5 ml pro Atemzug sowie eine Respirationsfrequenz von 40 Zügen pro Minute bei einer Inspirationszeit von 0,5 Sekunden und einem maximalen pulmonal-inspiratorischen Druck (PIP) von 12 – 14 cm H₂O eingestellt. Die Beatmung erfolgte mit einem positiv-endexpiratorischen Druck (PEEP) von 3 cm H₂O.

Vor der Entnahme des Herz-Lungen-Paketes wurden die Lungen in vivo mit unterschiedlichen Konservierungslösungen geflusht und für eine variable

Ischämiezeit von entweder 4 oder 6 Stunden in der korrespondierenden Lösung bei 10°C gelagert.

Nach der Ischämiephase wurden die Lungen wieder maschinell ventiliert und mit einer erythrozytenhaltigen Reperfusionslösung mittels einer Mikrorollerpumpe (Reglo-Digital-Kompaktpumpe Typ MS-2/8, Firma Ismatec, Zürich, Schweiz) für 50 Minuten reperfundiert. In diesem Beobachtungszeitraum wurden regelmäßig hämodynamische und respiratorische Parameter erhoben [Kap. 4.10.]. Desweiteren wurden serielle Blutgasanalysen durchgeführt, um die Oxygenierungsleistung zu beurteilen.

4.2. Versuchsbedingungen

4.2.1. Versuchsgruppen

Insgesamt wurden 48 Tiere untersucht, die randomisiert in 6 Gruppen zu je 8 Tieren mit unterschiedlichen Konservierungslösungen eingeteilt wurden. (Abb. 4.2.1.)

Gruppe	Perfusionslösung	Ischämiedauer
Gruppe 1 (P4A)	Perfadex [®] (antegrad)	4 Stunden
Gruppe 2 (C4A)	Celsior [®] (antegrad)	4 Stunden
Gruppe 3 (C4ADex)	Celsior [®] (Dextran/antegrad)	4 Stunden
Gruppe 4 (P6A)	Perfadex [®] (antegrad)	6 Stunden
Gruppe 5 (C6A)	Celsior [®] (antegrad)	6 Stunden
Gruppe 6 (C6R)	Celsior [®] (retrograd)	6 Stunden

[Tab. 4.2.1.] Gruppeneinteilung

Außer in Gruppe 6 wurden alle Tiere antegrad perfundiert, nur in Gruppe 3 wurde die native Konservierungslösung mit einem Zusatz angereichert.

4.2.2. Perfusionslösungen

Für die Versuche wurde entweder Perfadex[®]-Lösung (Firma Vitrolife, Göteborg, Schweden) oder Celsior[®]-Lösung (Firma IMTIX-SangStat GmbH, Lyon, Frankreich) verwendet. Die Zusammensetzung geht aus Tab. 2.5.3. hervor.

In der Gruppe 3 wurde zur Celsior®-Lösung Dextran 40 (Firma Serum-Werk, Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) zugesetzt, hierdurch entstand eine 5 %-ige Konzentration an Dextran in der Lösung, die somit der Dextrankonzentration in Perfadex entsprach.

4.2.3. Perfusionstemperatur

Alle Lungen wurden mit der jeweiligen Konservierungslösung bei einer Temperatur von 4°C geflusht.

4.3. Präparation und Flushperfusion der Lungen

4.3.1. Narkose

Nach einer Narkoseeinleitung mit Äther wurden jedem Tier 12 mg pro 100 g Körpergewicht Pentobarbital-Natrium (NARCOREN®, Firma Rhone Merieux GmbH, Laupheim, Deutschland) intraperitoneal injiziert.

4.3.2. Tracheotomie und endotracheale Intubation

Der Zugang zur Trachea des tief anästhesierten Tieres erfolgte nach Hautschnitt und Querinzision der Halsmuskulatur durch stumpfes Freipräparieren. Die Tracheotomie wurde mit einem Querschnitt zwischen zwei Knorpelspangen durchgeführt. Die eingeführte Trachealkanüle wurde mit einer einfachen Ligatur mit Nahtmaterial (3-0, Mersilene®, Firma Ethicon, Norderstedt, Deutschland) fixiert. Anschließend wurde diese Kanüle mit dem Kleintierrespirator konnektiert. Die Beatmung erfolgte mit den oben genannten Parametern.

4.3.3. Laparotomie und Thorakotomie

Nach Hautschnitt und stumpfer Präparation des Unterhautfettgewebes erfolgte die Laparotomie durch Kreuzschnitt. Zur Gerinnungshemmung wurden 1000 I.E. Heparin-Natrium (LIQUEMIN® N 25000, Firma Hoffmann La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) injiziert.

Im nächsten Schritt wurde das Diaphragma vorsichtig von der Thoraxinnenwand abgetrennt. Zum Schutz der Lunge wurde die Beatmung für die Durchtrennung des knöchernen Thorax kurz ausgesetzt. Es wurde von der untersten Rippe ausgehend bis zum Costo-Sterno-Clavicular-Gelenk geschnitten. Um die kollabierte Lunge wieder zu entfalten, wurden die beiden Lungenflügel durch druckkontrollierte Beatmung während zweier Beatmungszyklen aufgebläht. Am Beatmungsgerät war dabei ein maximaler Druck von 30 cm H₂O eingestellt.

Nach stumpfem Freipräparieren wurde zunächst die rechte V. cava superior kurz vor der Einmündung ins Herz geklippt, danach die linke V. cava superior kaudal vom Zufluß der V. azygos.

4.3.4. „Antegrade Perfusion“ - Kanülierungstechnik

Im nächsten Schritt wurde der Truncus pulmonalis durch den rechten Ventrikel mit einer Braunüle (Introcan[®], 14 G, Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland) kanüliert. Die mit Blut aus dem rechten Herzen gefüllte Braunüle wurde nun luftleer über einen Dreiwegehahn (Discofix[®], Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland) und eine Heidelberger Verlängerung (75 cm, Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland) mit einer Einwegspritze (20 ml, Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland) verbunden, diese diente als Reservoir für die gekühlte Konservierungslösung. Zur Kühlung diente ein Eiswassergefäß, in welchem die Spritze von Eiswasser umspült und in einem Stativ befestigt war. Die kontrollierte Einstellung der Stativhöhe gewährleistete die Flushperfusion mit einem hydrostatischen Druck von 20 cm H₂O.

Abschließend wurde die V. cava inferior knapp kranial ihres Durchtritts durch das Diaphragma geklippt und das linke Atrium inzidiert, damit das Perfusat abfließen konnte. Vor der nun folgenden Flushperfusion wurde die Lunge während zweier Beatmungszyklen unter druckkontrollierter Beatmung aufgebläht (Maximaldruck 30 cm H₂O). Entsprechend des Versuchsprotokolls wurde die Lunge mit 20 ml Konservierungslösung (entsprechend 40-50 ml/kg Körpergewicht) über den kanülierten Truncus pulmonalis perfundiert sowie die Durchflußzeit gemessen und protokolliert. Das Ende der Perfusion wurde als Beginn der Ischämiezeit definiert. Zur Entnahme wurden Ösophagus und V. cava inferior scharf durchtrennt, das Herz-Lungen-Paket vorsichtig von der Thoraxwand abgehoben und schließlich die großen Gefäße einschließlich der Trachea ebenfalls scharf durchtrennt.

Nach der en-bloc-Entnahme wurde das Herz-Lungen-Paket auf einem gekühlten Schwamm präpariert. (s. 4.4.)

4.3.5. „Retrograde Perfusion“ - Kanülierungstechnik

Für die retrograde Perfusion wurde die Lunge bis zum Klippen der großen Gefäßstämme identisch zur antegraden Perfusion präpariert. Nach dem Klippen der V. cava superior dextra und sinistra wurde in diesem Fall nicht der rechte sondern der linke Ventrikel mit einer Braunüle (Introcan® 14 G) kanüliert. Als nächstes wurde auch die V. cava inferior durch einen Clip (SLS-Clip®, Firma Vitalitec-BP1, Domalain, Frankreich) verschlossen. Nach einer herznahen Inzision der A. pulmonalis und dem Verschuß der Aorta ascendens durch einen Clip wurde die in den linken Ventrikel eingebrachte Kanüle bis in den linken Vorhof geschoben. Die nächsten Präparationsschritte waren wieder identisch zur antegraden Perfusion. Zuerst wurde die Lunge während zweier Beatmungszyklen gebläht und dann mit 20 ml einer Konservierungslösung geflutscht. Im Anschluß wurde die Lunge in der oben beschriebenen Art entnommen.

4.4. Kanülierung des Herz-Lungen-Paketes

Alle Lungen wurden nach der Entnahme auf einem mit 4°C kalter Ringerlösung gekühlten Schwamm weiter präpariert. Zunächst wurden Ösophagus und Aortenbogen vorsichtig entfernt und die Trachea und A. pulmonalis dargestellt.

Die A. pulmonalis wurde herznah durchtrennt und mit einer Metallkanüle eines Kanülenblocks versorgt. Doppelt geknüpftes Nahtmaterial (5/0 Mersilene®, Firma Ethicon, Norderstedt, Deutschland) fixierte die Kanüle sicher im Gefäß. Diese Kanüle wurde vorher mit der jeweiligen Konservierungslösung gefüllt und war durch einen Dreiwegehahn mit einer stehenden Flüssigkeitssäule verschlossen. Die Trachea wurde mit einer zweiten Kanüle des Kanülenblocks in der gleichen Art und Weise versorgt und mit dem Beatmungsgerät verbunden. Der linke Vorhof wurde mit einer frei endenden Kanüle verbunden und mit einer geknüpften Naht gesichert.

Die Lunge wurde im nächsten Schritt frei hängend an einem Stativ befestigt und während dreier Beatmungszyklen durch druckkontrollierte Beatmung (maximaler Druck: 30 cm H₂O) wieder entfaltet.

Mittels des Beatmungsgerätes wurde die Lunge anschließend mit einem definierten Druck von 12 cm H₂O mit Luft gefüllt und durch Verschluss des zuführenden Schlauches mit einer Klemme in diesem Zustand fixiert.

4.5. Ischämiezeit

Während der Ischämiezeit wurden alle Lungen in der jeweiligen Lösung bei 10°C gelagert. Hierbei waren Luftweg und A. pulmonalis dicht verschlossen.

4.6. Reperusionslösung

4.6.1. Das Erythrozytenkonzentrat

Zur Reperfusion wurde ein Erythrozytenkonzentrat aus Rinderblut verwendet. Am Vortag des Versuches wurde dieses direkt von ausblutenden Tieren im Schlachthof gewonnen und mit Heparin (LIQUEMIN® N 25000, Firma Hoffmann La Roche AG, 15000 IE pro 1000 ml) versetzt. Die gefüllten Behälter wurden gekühlt ins Labor zur weiteren Verarbeitung transportiert.

Mit einer Zentrifuge (Megafuge 1.0 RS, Firma Heraeus®, Osterode, Deutschland) wurde das Blut zehn Minuten bei 4000 Umdrehungen bei 4°C zentrifugiert und der Überstand mit einem Vakuumsauger abgesaugt.

Zum Waschen wurden die Zentrifugegefäße mit 0,9 % Kochsalzlösung (Firma Braun, Melsungen, Deutschland) aufgefüllt und erneut zehn Minuten bei den gleichen Einstellungen zentrifugiert. Bis zum Versuchstag wurde das Erythrozytenkonzentrat im Kühlschrank bei 10°C aufbewahrt und vor der Verwendung nochmals mit 0,9 % Kochsalzlösung für zehn Minuten gewaschen.

Zum Versuch wurde der Überstand abgesaugt und das Erythrozytenkonzentrat mit Krebs-Henseleit-Lösung vermischt und in den Reperusionskreislauf gefüllt. Dabei wurde der Hämatokrit des Gemisches auf 0,38 – 0,40 eingestellt. Gemessen wurde der Hämatokrit mit einer Zentrifuge (Biofuge haemo, Firma Heraeus®, Osterode, Deutschland) bei 15000 Umdrehungen/min für 5 min.

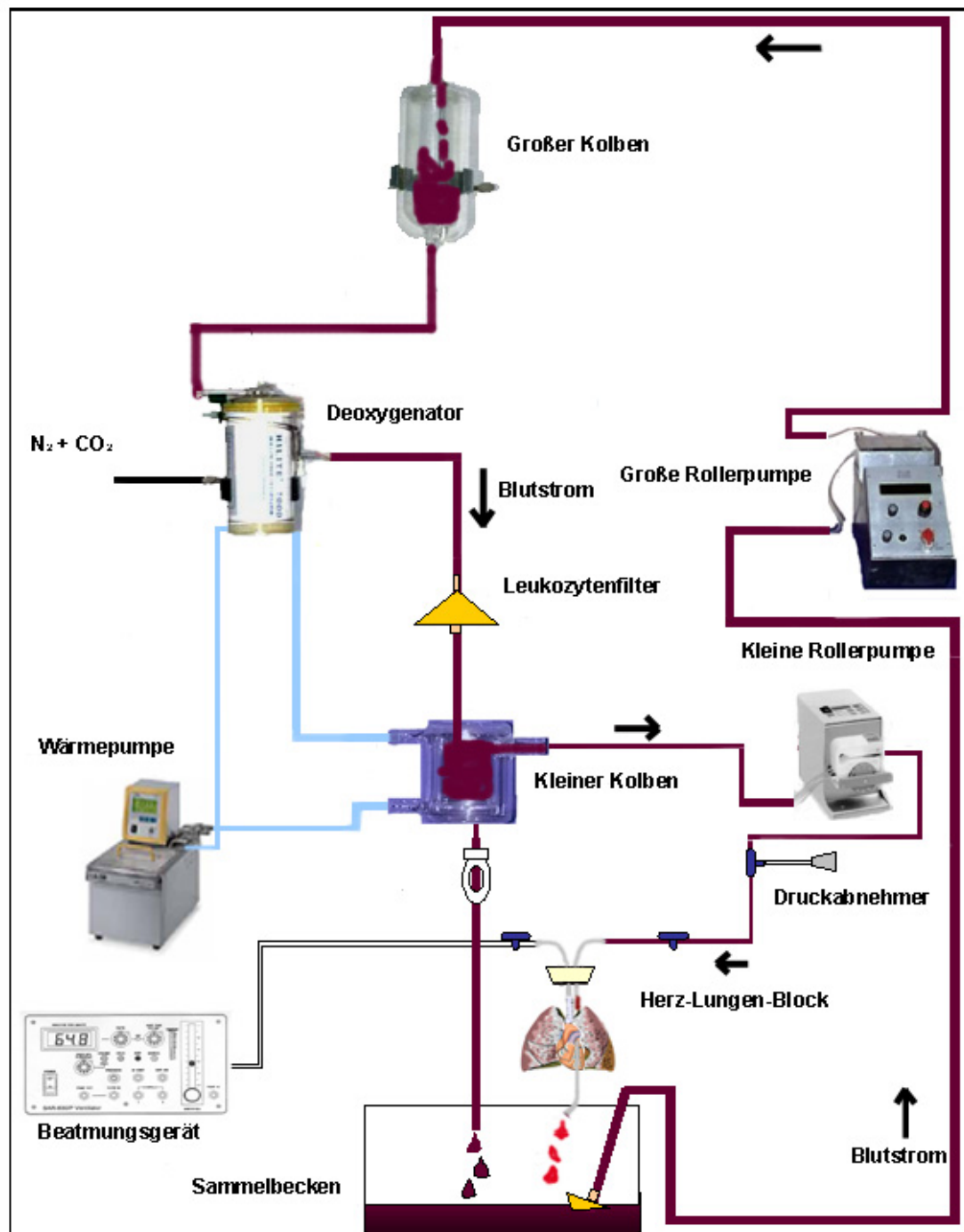
4.6.2. Die Krebs-Henseleit-Lösung

Komponente	Anteil
NaCl	6,84 g
Glucose	2,20 g
NaHCO ₃	2,10 g
KCl (1,0 M)	0,30 g
CaCl ₂ (1,0 M)	0,37 g
MgSO ₄ (0,1 M)	0,17 g
KH ₂ PO ₄ (0,1 M)	0,16 g

[Tab. 4.6.2.]: Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Lösung (pro 1000 ml)

Die Lösung wurde jeweils am Versuchstag mit Aqua dest. frisch angesetzt und filtriert. Der pH-Wert wurde auf 7,42 eingestellt.

4.7. Extrakorporale Reperfusion



[Abb. 4.7.] Skizze des extrakorporalen Reperfusionsmodell

Die extrakorporale Reperfusion erfolgte in einem experimentellen Aufbau, der sich aus einem „Kleinen“ und einem „Großen“ Kreislauf zusammensetzte, die beide in Serie geschaltet waren (Abb. 4.7.). Der „Kleine Kreislauf“ entspricht dem Lungenkreislauf *in vivo*, während der große Kreislauf den Körperkreislauf darstellt.

Das Gemisch aus Erythrozytenkonzentrat und Krebs-Henseleit-Lösung wurde in ein großes Sammelbecken eingefüllt. Mit einer großen Rollerpumpe (Multiflow-Pumpe, Firma Stöckert, München, Deutschland) wurde es über ein Schlauchsystem in ein großes Sammelgefäß gepumpt, das den höchsten Punkt des Kreislaufes darstellte. An der Spitze des Schlauches war ein Leukozytenfilter (leukocyte filter, RC 100E, Firma Pall Europe Ltd., Portsmouth, England) eingefügt. Durch den hydrostatischen Druck gelangte das Blut aus dem großen Kolben durch einen Schlauch zu einem Desoxygenator (Module HILITE 7000, Hollow Fiber Oxygenator, Stolberg, Deutschland), der kontinuierlich mit Stickstoff und Kohlendioxid begast wurde. Das hierdurch desoxygenierte Blutgemisch gelangte durch einen weiteren Leukozytenfilter in ein kleines Sammelgefäß. Dieses diente als Reservoir für eine kleine Rollerpumpe (Reglo-Digital-Kompaktpumpe, Typ MS 2/8, Firma Ismatec-Laboratoriumstechnik, Wertheim, Deutschland), durch die das Gemisch zur Lunge transportiert wurde. Die Reperfusion begann mit einem Fluß von 1 ml/min, der minütlich um jeweils einen Milliliter gesteigert wurde, bis nach Ablauf der 7. Minute eine Rate von 8 ml/min erreicht wurde. Dieser Fluß wurde bis zum Ende der 50-minütigen Reperfusionsphase konstant gehalten. Nach der Rollerpumpe war der Druckabnehmer (Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland) zur Messung des pulmonal-arteriellen Druckes in den Kreislauf implementiert. Das letzte Stück des kleinen Kreislaufes bildete ein dünner Schlauch, der mit der Pulmonalkanüle des Herz-Lungen-Blockes konnektiert wurde. Somit konnte ein konstanter Blutfluß in die Arteria pulmonalis gewährleistet werden. Das Blutgemisch gelangte nun in den Lungenkreislauf und auf physiologischem Wege ins linke Herz und konnte durch die Metallkanüle im linken Vorhof austreten. An dieser Stelle wurden die Proben für Blutgasanalysen gewonnen.

Eine Warmwasserpumpe (Lauda-Kompaktthermostat, Typ M3B, Firma Lauda Dr. Wobser GmbH Co & KG, Königshofen, Deutschland) und ein unabhängiges Schlauchsystem dienten der Erwärmung des Blutgemisches auf 37°C. Der Desoxygenator sowie das kleine und große Sammelgefäß waren durch Schläuche zu einem Wärmekreislauf zusammengeschaltet. Die Temperatur wurde in dem kleinen Glaskolben vor dem Eintritt in die Lunge gemessen.

Über die zweite Kanüle des Herz-Lungen-Blockes wurde die Trachea mit dem Beatmungsgerät verbunden und beatmet.

Verwendet wurden dabei dieselben Ventilationsparameter wie bei der Präparation (Atemzugvolumen: 5 ml/Atemzug, Respirationsfrequenz: 40/min, PEEP: 3 cm H₂O).

4.8. Meßwerte

Während der Präparation wurde die **Flushzeit** gemessen, definiert als Zeit, in der die 20 ml der Konservierungslösung die Lunge vollständig passierten.

Im Anschluß an die vier- oder sechsstündige Ischämiezeit begann die extrakorporale Reperfusionsphase, hierbei wurden in zehnminütigen Intervallen die Parameter der Hämodynamik, Respiration und des Gasaustausches bestimmt.

Der **mittlere pulmonal-arterielle Druck** (MPAP [mmHg]) wurde mit Hilfe eines Druckabnehmers gemessen. Die Druckwerte wurden auf einem Überwachungsmonitor (Viridia 24 CT, Firma Hewlett-Packard, Böblingen, Deutschland) dargestellt und alle 10 Minuten abgelesen.

Die **Lungenperfusionsrate** (flow_L [ml/min]) wurde durch Messung des pro Minute aus der linken Atrialkanüle austretenden Volumens bestimmt.

Der **pulmonal-vaskuläre Widerstand** (PVR) wurde aus diesen beiden Größen und dem konstanten linksatrialen Druck (LAP [mmHg]) mit der Formel in Abb. 4.8.a berechnet.

$$\text{PVR} = \frac{(\text{MPAP} - \text{LAP}) * 80}{\text{flow}_L}$$

[Abb. 4.8.a] Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR) [dynes*sec*cm⁻⁵]

MPAP: mittlerer pulmonal-arterieller Druck [mmHg]

LAP: linksatrialer Druck [mmHg]

flow_L: Lungenperfusionsrate [ml/min]

Der **pulmonal-inspiratorische Spitzendruck** (PIP) wurde kontinuierlich durch einen in das Beatmungsgerät integrierten Druckmesser aufgenommen.

Zur Beurteilung der Gasaustauschfunktion wurden alle zehn Minuten jeweils eine oxygenierte und eine desoxygenierte Probe aus dem extrakorporalen Kreislauf entnommen. Dabei wurde die desoxygenierte Probe aus dem kleinen Sammelgefäß nach dem Desoxygenator entnommen (unmittelbar vor dem Durchströmen der Lunge) und die oxygenierte Probe direkt nach Passage der Lunge aus der linken

Atrialkanüle. Mit einem Blutgasanalysegerät (ABL 715, Firma Radiometer-Copenhagen, Willich, Deutschland) wurden die Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdrücke (P_{dOxO_2} , P_{OxO_2} , P_{dOxCO_2} und P_{OxCO_2}) und der pH-Wert bestimmt.

Um die Gasaustauschfunktion der Lunge beurteilen zu können, wurde nach der Formel in Abb. 4.8.b die **absolute Oxygenierungskapazität** (OXabs) berechnet.

$$\text{OXabs} = P_{\text{OxO}_2} - P_{\text{dOxO}_2}$$

[Abb. 4.8.b] Absolute Oxygenierungskapazität [mmHg]

P_{OxO_2} :	Sauerstoffpartialdruck des oxygenierten Blutes [mmHg]
P_{dOxO_2} :	Sauerstoffpartialdruck des desoxygenierten Blutes [mmHg]

Nach Abschluß der 50-minütigen Reperfusionphase wurde die rechte Lungenhälfte abgetrennt und auf einer Präzisionswaage (Sartorius BP 121 S, Firma Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) gewogen und damit das Feuchtgewicht bestimmt. Nach 24 Stunden Trocknung in einem Wärmeschrank (Firma WTC Binder, Tuttlingen, Deutschland) bei 60°C wurde das Trockengewicht bestimmt. Aus diesen beiden Werten wurde nun der Feucht-Trockengewichtsquotient (W / D-Ratio) berechnet.

4.9. Statistische Methoden

Die statistische Analyse erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der Friedrich-Schiller-Universität Jena unter Betreuung von Herrn Dr. Vollandt. Die Auswertung wurde mit dem Programm SPSS® 10.0.4 (Software Incorporation, Toronto, Kanada) auf einem Pentium-PC (Microsoft® Windows®) durchgeführt. Die graphische und numerische Darstellung aller Meßwerte erfolgte als Mittelwert (M) \pm Standardabweichung (SD). Bei einfachen Variablen, die einmalig ermittelt und über die Versuchszeit konstant gehalten wurden, wurde eine univariate Varianzanalyse (einfaktorielle ANOVA) durchgeführt. Bei Variablen, die über die Zeit nicht konstant waren, wurde der Mittelwert aus den ermittelten Werten (jeweils fünf Werte im zehnminütigen Abstand) gebildet und ebenfalls eine univariate Varianzanalyse (einfaktorielle ANOVA) durchgeführt. Bei Varianzhomogenität (Levene-Test: $p > 0,05$) wurde eine post-hoc-Analyse mittels des Tukey-B-Testes durchgeführt.

Bei Varianzheterogenität (Levene-Test: $p < 0,05$) erfolgte die post-hoc-Analyse mit dem Tamhane-Test. Als Signifikanzschranken wurden $p < 0,05$ als signifikant und $p < 0,01$ als stark signifikant gewählt.

Zur Feststellung eines zeitlichen Einflusses bei seriell ermittelten Parametern wurde eine Multivarianzanalyse (ANOVA mit Meßwiederholungen) in jeder Gruppe für jede Variable durchgeführt. Hierdurch konnten Aussagen getroffen werden, ob sich ein Parameter über die Zeit konstant verhielt oder eine signifikante Änderung auftrat.

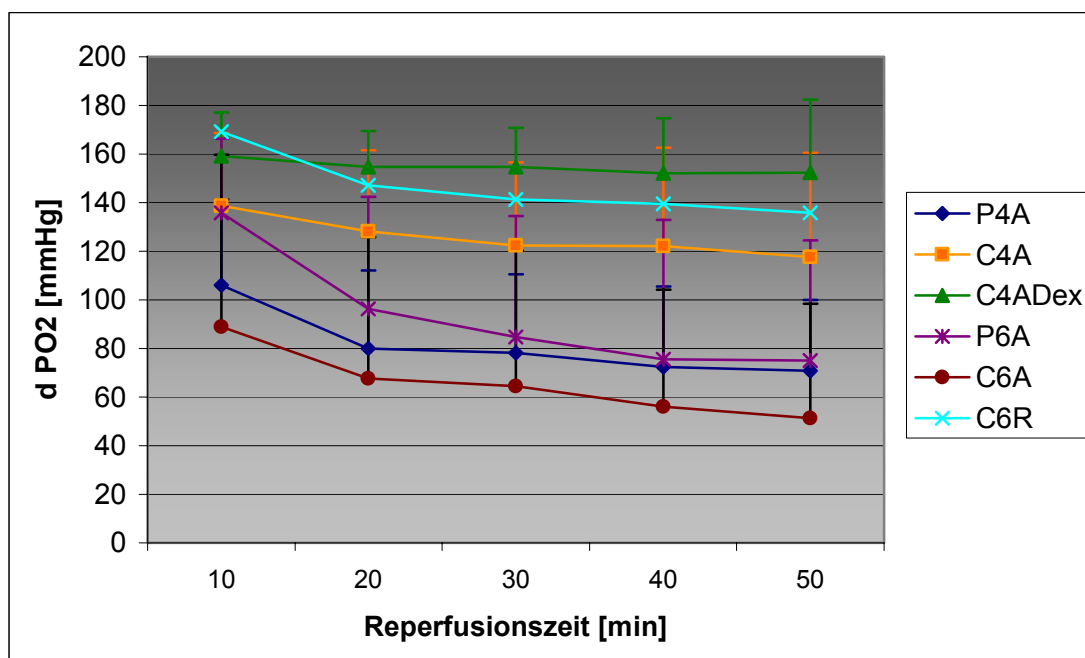
5. Ergebnisse

In allen Gruppen erreichten alle Lungen eine zufriedenstellende postischämische Funktion, nur in der Gruppe C6A (Celsior (antegrad) bei 6h Ischämie) zeigten zwei Lungen einen massiven Reperfusionsschaden, der zum Abbruch nach 10 bzw. 20 Minuten Reperfusionszeit führte.

5.1. Gasaustausch und Lungenmechanik

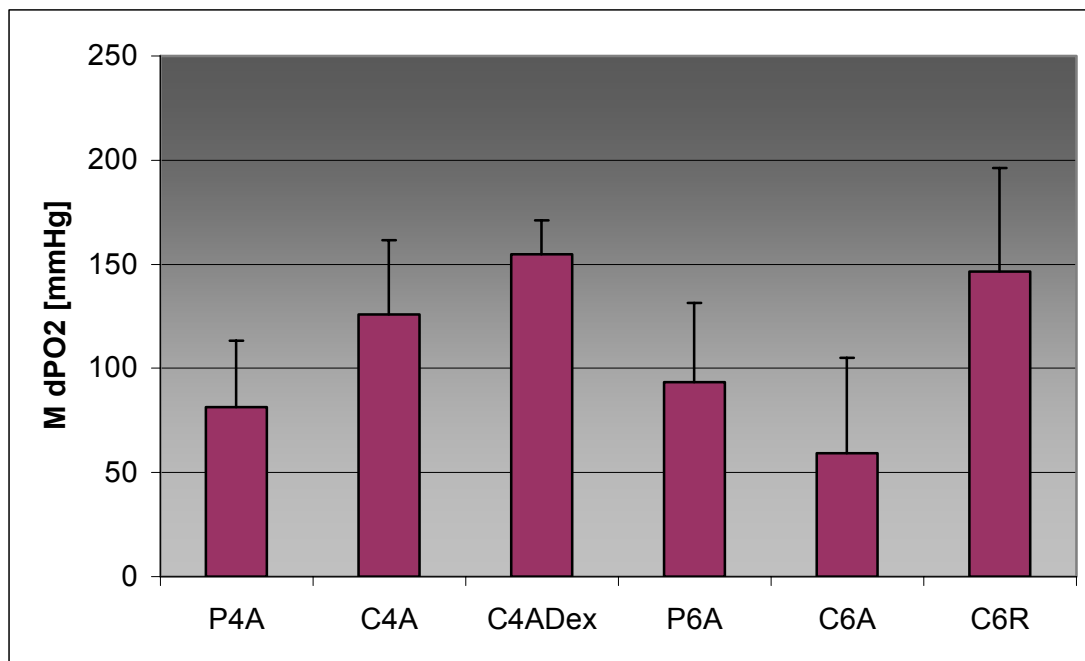
5.1.1. Absolute Oxygenierungskapazität

Alle Lungen erreichten eine zufriedenstellende postischämische Funktion. Beim Vergleich zwischen den Gruppen zeigten sich bei der absoluten Oxygenierungskapazität allerdings deutliche Unterschiede [Abb. 5.1.1.a und Abb. 5.1.1.b]. Bei vier Stunden Ischämie ergaben sich für die mit Celsior®-Lösung konservierten Lungen bessere Oxygenierungsleistungen (zum Teil signifikant) als für die mit Perfadex®-Lösung konservierten Lungen. Beim Vergleich nach sechs Stunden Ischämie zeigten nur die retrograd mit Celsior®-Lösung konservierten Lungen bessere Oxygenierungsleistungen als die Perfadex-Gruppe.



[Abb. 5.1.1.a] Absolute Oxygenierungskapazitäten (dPO_2)

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran



[Abb. 5.1.1.b] Mittlere absolute Oxygenierungskapazitäten

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran

[C4ADex vs. P4A: $p = 0,002$ / C4ADex vs. C6A: $p = 0,011$]

[C6R vs. P4A: $p = 0,036$ / C6R vs. C6A: $p = 0,024$]

ZEIT [MIN]	10	20	30	40	50
Gruppe 1 (P4A)	106,1 ± 35,4	80,1 ± 32,0	78,2 ± 32,2	72,3 ± 33,2	70,7 ± 29,4
Gruppe 2 (C4A)	138,8 ± 29,9	128,1 ± 33,4	122,5 ± 34,2	122,0 ± 40,7	117,6 ± 43,0
Gruppe 3 (C4ADex)	159,3 ± 17,9	154,7 ± 14,7	154,7 ± 16,2	152,1 ± 22,7	152,5 ± 29,9
Gruppe 4 (C6R)	169,2 ± 16,9	147,1 ± 45,9	141,4 ± 44,3	139,5 ± 43,4	135,9 ± 43,1
Gruppe 5 (P6A)	135,9 ± 30,5	96,3 ± 46,0	84,6 ± 50,0	75,6 ± 57,2	75,1 ± 49,3
Gruppe 6 (C6A)	89,0 ± 70,8	67,5 ± 58,3	64,4 ± 55,9	56,1 ± 48,0	51,2 ± 47,3

[Tab. 5.1.1.] Mittlere absolute Oxygenierungskapazität [mmHg] im zeitlichen Verlauf

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran

Die Angabe der Meßwerte erfolgt als Mittelwert (M) ± Standardabweichung (SD)

Die besten Ergebnisse nach vier Stunden erreichten die mit Celsior®-Lösung konservierten Lungen, wobei der Zusatz von Dextran eine Verbesserung darstellte.

Die Gruppe 3 (C4ADex; Celsior® mit 5 % Dextran) erwies sich als signifikant besser gegenüber Gruppe 1 (P4A; Perfadex® nativ) mit $p = 0,002$. Im Vergleich zur Gruppe 2 (C4A; Celsior® nativ) erbrachte der Zusatz von Dextran zwar eine bessere Oxygenierungskapazität, erreichte aber kein signifikantes Niveau.

In Gruppe 1 wurde zu Beginn der Reperfusionphase ein Wert von 106,05 mmHg \pm 35,38 mmHg ermittelt, der bis zum Ende bis auf 70,74 mmHg \pm 29,39 mmHg abfiel.

Bei Gruppe 2 konnte ein Abfall von 138,76 mmHg \pm 29,89 mmHg auf 117,56 mmHg \pm 42,97 mmHg beobachtet werden.

In Gruppe 3 lagen die Werte zu Beginn im Mittel bei 159,33 mmHg \pm 17,90 mmHg. Im weiteren Verlauf der Reperfusion blieben die Meßwerte weitgehend konstant, und nach 50 Minuten konnte ein Wert von 152,46 \pm 29,85 ermittelt werden. Dies war der geringste Abfall der Oxygenierungskapazität von allen Gruppen.

Bei sechs Stunden Ischämiezeit waren die retrograd mit Celsior[®]-Lösung konservierten Lungen signifikant besser als die antegrad geflushten Lungen. Die Verwendung von Perfadex[®]-Lösung erbrachte ebenfalls eine Verbesserung gegenüber antegrader Konservierung mit Celsior[®]-Lösung, nicht jedoch im Vergleich zur retrograden Perfusion.

Gruppe 6 (C6R; Celsior[®] retrograd) zeigte zu Beginn die beste absolute Oxygenierungskapazität von allen Gruppen mit 169,23 mmHg \pm 16,95 mmHg, allerdings sank sie im weiteren Verlauf auf 135,91 mmHg \pm 43,10 mmHg ab.

Im Vergleich hierzu schnitt die antegrade Konservierung mit Celsior[®]-Lösung (C6A; Gruppe 5) nach sechs Stunden Ischämiezeit signifikant schlechter ab ($p = 0,024$). Zu Beginn wurde eine Kapazität von 89,00 mmHg \pm 70,80 mmHg ermittelt, am Schluß der fünfzig Minuten wurden nur noch 51,20 mmHg \pm 47,33 mmHg erreicht.

Bei der Verwendung von Perfadex (P6A; Gruppe 4) wurden Oxygenierungskapazitäten von 135,86 mmHg \pm 30,49 mmHg zu Beginn und 75,11 mmHg \pm 49,26 mmHg am Ende der Reperfusion ermittelt.

Beim Vergleich zwischen vier und sechs Stunden Ischämiezeit ergab sich ein signifikanter Unterschied durch den Zusatz von Dextran zur Celsior[®]-Lösung, wobei die antegrade Konservierung bei verlängerter Ischämiezeit deutlich unterlag ($p = 0,011$). Wurde hingegen mit Celsior[®]-Lösung retrograd geflusht, war die Oxygenierungskapazität trotz Ausdehnung der Ischämiezeit nur geringfügig schlechter als bei mit Dextran versetzter Lösung. Es wurden sogar bessere Werte als bei der antegraden Konservierung bei vier Stunden Ischämiezeit erreicht.

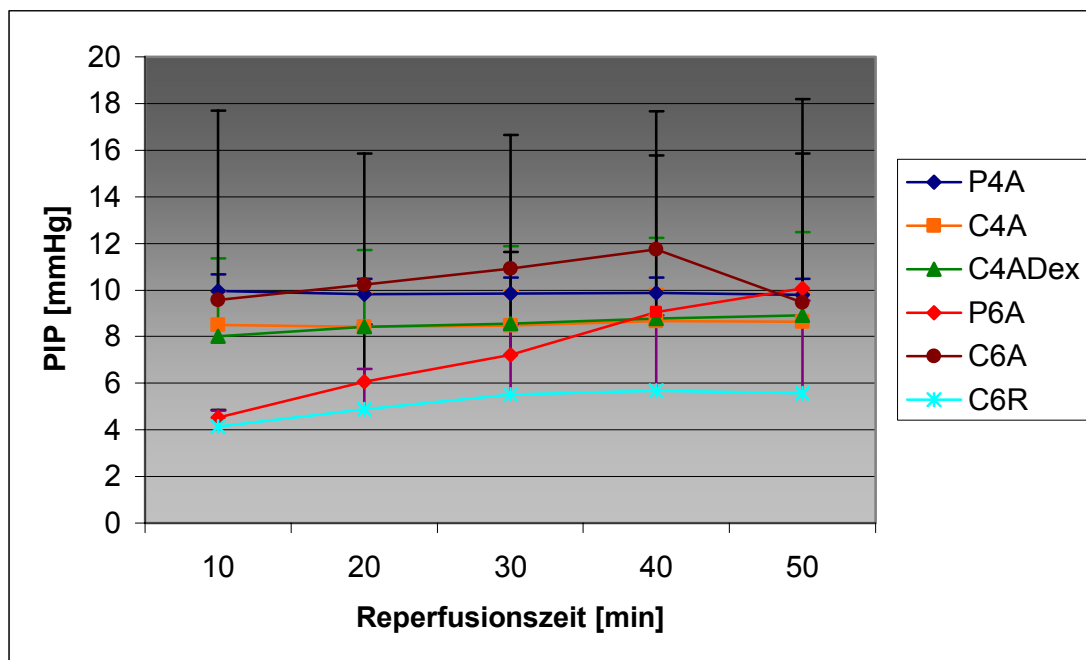
Bei antegrader Konservierung ergab sich ein deutlicher Abfall der Oxygenierungsleistung bei Ausdehnung der Ischämiezeit, ein statistisch signifikantes Niveau konnte nicht erreicht werden.

Die Verwendung von Perfadex®-Lösung zeigte bei Ausdehnung der Ischämiezeit eine leichte Verbesserung, ohne ein statistisch signifikantes Niveau zu erreichen.

Im Vergleich zur retrograden Flushperfusion mit Celsior®-Lösung bei längerer Ischämiezeit hingegen ergaben sich für die Perfadex®-Lösung signifikant schlechtere Werte ($p = 0,036$).

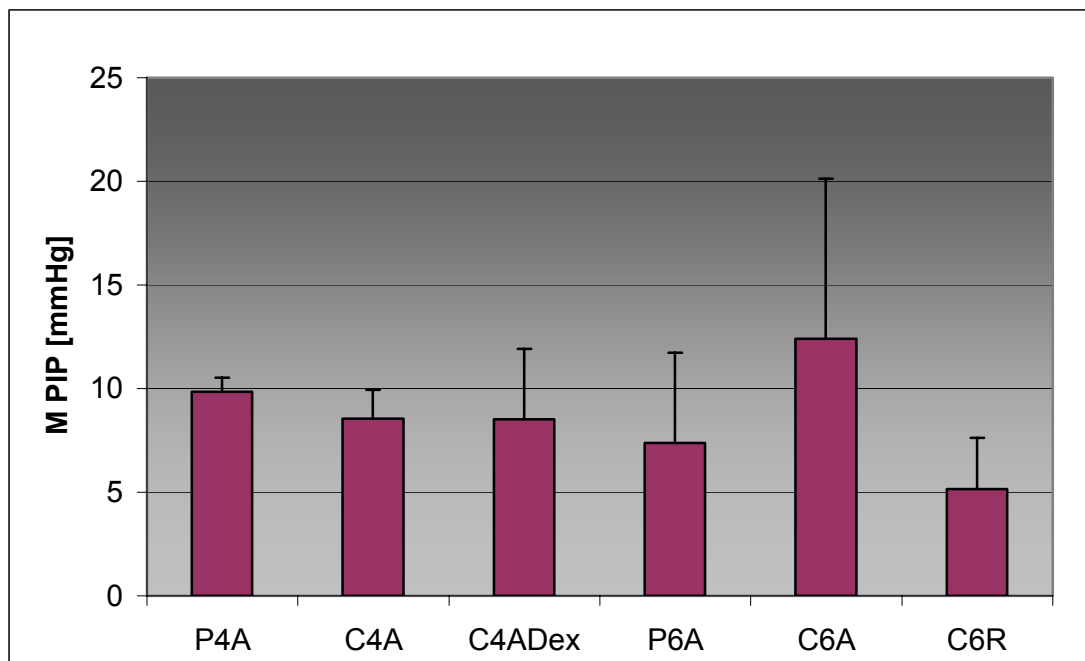
5.1.2. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck

Beim Vergleich der mittleren pulmonal-inspiratorischen Spitzendrücke zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen [Abb. 5.1.2.a und 5.1.2.b].



[Abb. 5.1.2.a] Pulmonal-inspiratorische Spitzendrücke

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran



[Abb. 5.1.2.b] Mittlere pulmonal-inspiratorische Spitzendrücke

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran

[C6R vs. P4A: $p = 0,012$]

ZEIT [MIN]	10	20	30	40	50
Gruppe 1 (P4A)	9,97 ± 0,70	9,81 ± 0,66	9,85 ± 0,70	9,87 ± 0,66	9,78 ± 0,69
Gruppe 2 (C4A)	8,50 ± 1,45	8,43 ± 1,45	8,47 ± 1,51	8,66 ± 1,37	8,63 ± 1,28
Gruppe 3 (C4ADex)	8,00 ± 3,35	8,41 ± 3,30	8,55 ± 3,32	8,78 ± 3,45	8,92 ± 3,55
Gruppe 4 (C6R)	4,17 ± 0,69	4,88 ± 1,73	5,51 ± 3,01	5,68 ± 3,25	5,57 ± 3,97
Gruppe 5 (P6A)	4,53 ± 0,34	6,06 ± 2,48	7,20 ± 4,44	9,04 ± 6,74	10,07 ± 8,11
Gruppe 6 (C6A)	9,58 ± 8,11	10,24 ± 5,61	10,93 ± 5,71	11,73 ± 5,94	9,46 ± 6,38

[Tab. 5.1.2.] Mittlere pulmonal-inspiratorische Spitzendrücke [mmHg]

im zeitlichen Verlauf

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran

Die Angabe der Meßwerte erfolgt als Mittelwert (M) ± Standardabweichung (SD)

Bei vier Stunden Ischämiezeit erreichte die Gruppe 1 (P4A; Perfadex® nativ) die etwas schlechteren Werte im Vergleich mit beiden Celsior-Gruppen (C4A / Celsior® nativ und C4ADex / Celsior® mit 5 % Dextran). Zu Beginn war der mittlere Spitzendruck 9,97 mmHg ± 0,70 mmHg und blieb im Verlauf konstant und war am Ende der Reperfusion 9,78 mmHg ± 0,69 mmHg.

Zwischen Gruppe 2 (C4A; Celsior® nativ) und 3 (C4ADex; Celsior® mit 5 % Dextran) ergab sich nur ein geringer Unterschied, Gruppe 2 zeigte bei einem konstanten

Verlauf beim ersten Meßpunkt $8,50 \text{ mmHg} \pm 1,45 \text{ mmHg}$ und beim letzten Meßpunkt $8,63 \text{ mmHg} \pm 1,28 \text{ mmHg}$. In Gruppe 3 stieg der mittlere Spitzendruck im Verlauf von $8,00 \text{ mmHg} \pm 3,35 \text{ mmHg}$ auf $8,92 \text{ mmHg} \pm 3,55 \text{ mmHg}$ an.

Bei einer Ischämiezeit von sechs Stunden konnten bei Gruppe 6 (C6R; Celsior® retrograd) deutlich bessere Ergebnisse beobachtet werden als bei den anderen beiden Gruppen.

Die Meßwerte lagen zu Beginn in dieser Gruppe bei $4,14 \text{ mmHg} \pm 0,69 \text{ mmHg}$ und stiegen nur leicht auf $5,57 \text{ mmHg} \pm 3,97 \text{ mmHg}$ an.

Der direkte Vergleich zur antegraden Perfusion mit Celsior® zeigte deutlich schlechtere Ergebnisse in Gruppe 5 (C6A; Celsior® nativ). Waren die Meßwerte zu Beginn der Reperfusion noch $9,58 \text{ mmHg} \pm 8,11 \text{ mmHg}$, so erreichten sie bei vierzig Minuten ihren Höchstwert mit $11,73 \text{ mmHg} \pm 5,94 \text{ mmHg}$ um dann wieder auf $9,46 \text{ mmHg} \pm 6,38 \text{ mmHg}$ abzufallen. Die mit Perfadex® konservierten Lungen in Gruppe 4 (P6A; Perfadex® nativ) zeigten dagegen einen regelmäßigen Anstieg über die gesamte Meßdauer. Zuerst war der mittlere Spitzendruck ungefähr gleich groß wie in Gruppe 4 mit $4,54 \text{ mmHg} \pm 0,34 \text{ mmHg}$, um am Ende fast den doppelten Wert zu erreichen, $10,07 \text{ mmHg} \pm 8,11 \text{ mmHg}$.

Beim Vergleich zwischen den Gruppen mit verschiedenen Ischämiezeiten war bei den retrograd geflussten Lungen (C6R) der mit Abstand niedrigste pulmonal-inspiratorische Spitzendruck zu beobachten. Statistische Signifikanz erreichte aber nur der Vergleich mit Gruppe 1 (P4A) ($p = 0,012$).

Für Celsior®-Lösung konnte man bei längerer Ischämiezeit eine Verschlechterung bei antegrader und eine Verbesserung bei retrograder Perfusion feststellen.

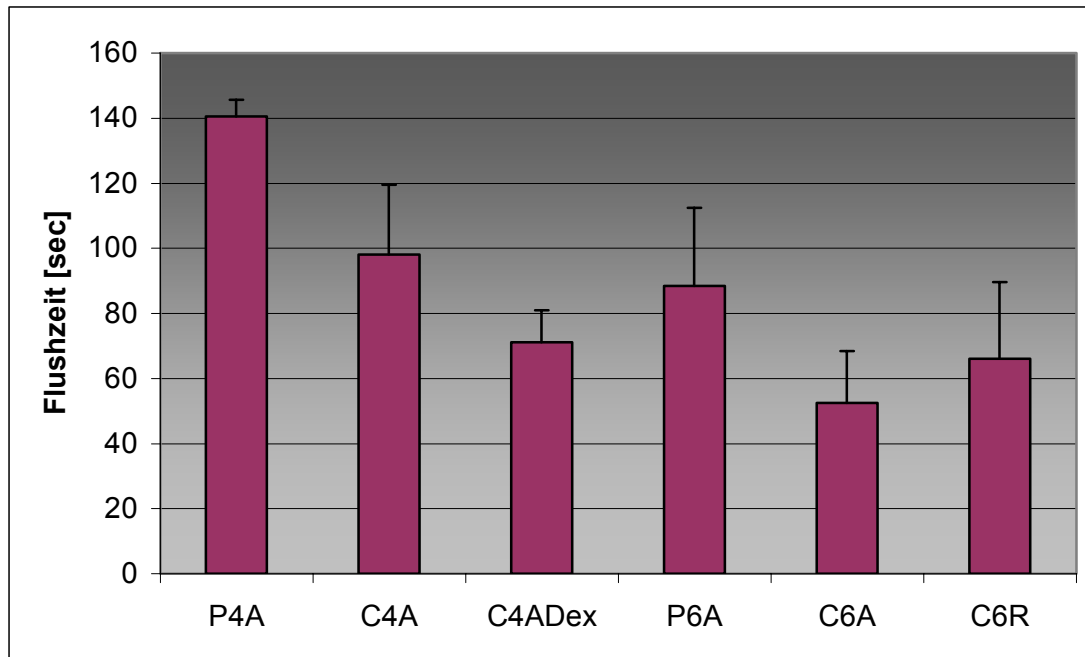
Dasselbe traf auch für den Vergleich mit Perfadex®-Lösung zu.

Aufgefallen war auch ein niedrigerer Spitzendruck bei der Verwendung von Perfadex® bei ausgedehnter Ischämiezeit zu Beginn der Reperfusion. Allerdings stieg dieser dann während der Reperfusion auf einen leicht höheren Wert an, als in Gruppe 1 mit kurzer Ischämiezeit, hier blieben die Werte weitgehend konstant.

5.2. Hämodynamische Parameter

5.2.1. Flushzeit

Bei der Flushzeit wurden ebenfalls deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Lösungen und der Applikationsart festgestellt. [Abb. 5.2.1.]



[Abb. 5.2.1.] Flushzeit

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran

[C4A vs. C6A: p = 0,005 / C4A vs. P4A: p = 0,010]

[P4A vs. C4ADex: p = 0,000 / P4A vs. P6A: p = 0,006]

[P4A vs. C6A: p = 0,000 / P4A vs. C6R: p = 0,000]

GRUPPE	M [S]	SD [S]
Gruppe 1 (P4A)	140,63	4,96
Gruppe 2 (C4A)	98,13	21,37
Gruppe 3 (C4ADex)	71,13	9,91
Gruppe 4 (C6R)	66,13	23,56
Gruppe 5 (P6A)	88,50	23,90
Gruppe 6 (C6A)	52,50	15,96

[Tab. 5.2.1.] Mittlere Flushzeit [s]

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran

Die Angabe der Meßwerte erfolgt als Mittelwert (M) ± Standardabweichung (SD)

Bei vier Stunden Ischämie war die Flushzeit bei Gruppe 1 (P4A; Perfadex[®] nativ) mit 140,63 s \pm 4,96 s signifikant länger als bei Gruppe 2 (C4A; Celsior[®] nativ) und 3 (C4ADex; Celsior[®] mit 5 % Dextran). Bei Verwendung von nativer Celsior[®]-Lösung ergab sich ein Mittelwert von 98,13 s \pm 21,37 s (Gruppe 1 vs. Gruppe 2, p = 0,010). Der Zusatz von Dextran führte zu einer Verkürzung auf 71,13 s \pm 9,91 s (Gruppe 1 vs. Gruppe 3, p = 0,000).

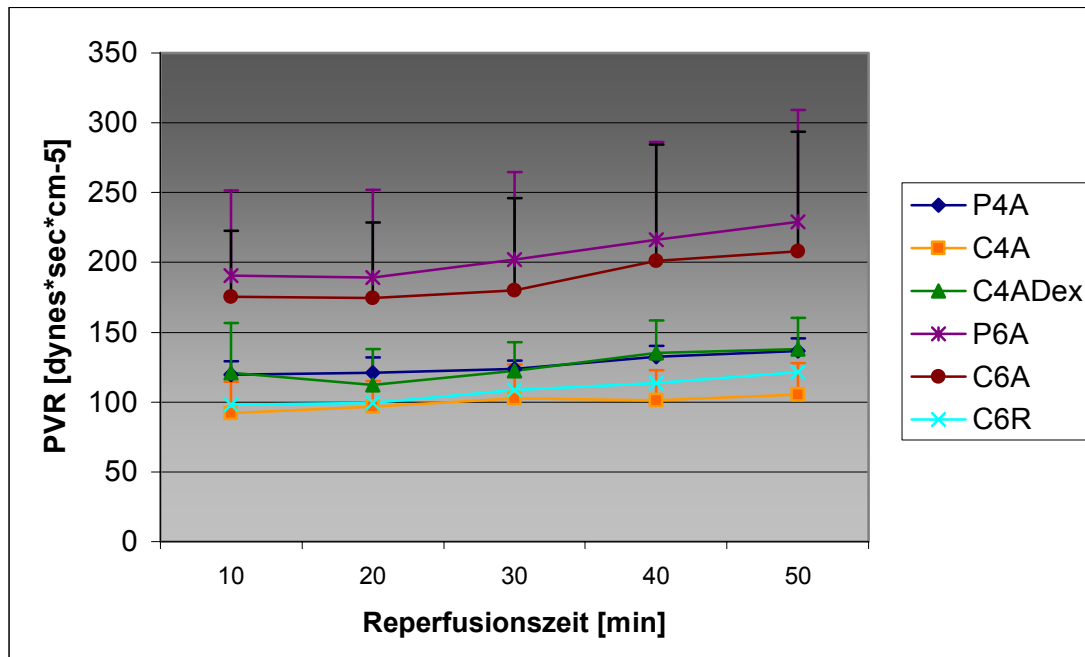
Bei sechsständiger Ischämie war ebenfalls bei Perfadex[®]-Lösung (Gr. 4, P6A) die längste Flushzeit beobachtbar, im Mittel 88,50 s \pm 23,90 s. Beide Celsior[®]-Gruppen zeigten eine geringere Flushzeit, Gruppe 6 (C6R; Celsior[®] retrograd) mit 66,13 s \pm 23,56 s und Gruppe 5 (C6A; Celsior[®] nativ) die insgesamt niedrigste Flushzeit mit 52,50 s \pm 15,96 s.

Der Vergleich bei unterschiedlichen Ischämiezeiten erbrachte für Perfadex[®]-Lösung in Gruppe 1 (P4A; Perfadex[®] nativ) die insgesamt längste Flushzeit, signifikant (p = 0,006) länger als in Gruppe 4 (P6A; Perfadex[®] nativ) und ebenfalls signifikant länger als mit Celsior[®]-Lösung geflushte Lungen (Gruppe 1 vs. Gruppe 6, p = 0,000; Gruppe 1 vs. Gruppe 5, p = 0,000).

Der Vergleich zwischen den Celsior[®]-Gruppen zeigte eine Verkürzung bei retrograder Perfusion und eine signifikant niedrigere Flushzeit bei antegrader Perfusion mit Ausdehnung der Ischämiezeit (Gruppe 2 vs. Gruppe 5, p = 0,005).

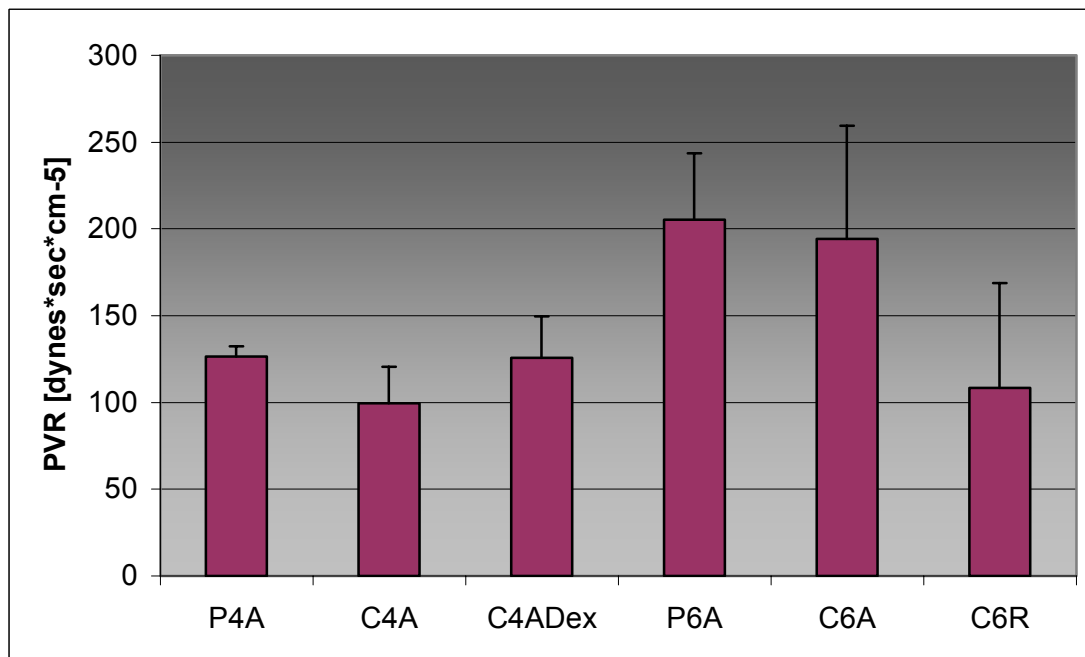
5.2.2. Pulmonal-vaskulärer Widerstand

Bei der Betrachtung des mittleren pulmonal-vaskulären Widerstandes fielen deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen auf [Abb. 5.2.2.a und 5.2.2.b].



[Abb. 5.2.2.a] Pulmonal-vaskulärer Widerstände

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran



[Abb. 5.2.2.b] Mittlere pulmonal-vaskuläre Widerstände

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran

[C4A vs. P6A: $p = 0,032$ / C4A vs. C6A: $p = 0,039$]

ZEIT [MIN]	10	20	30	40	50
Gruppe 1 (P4A)	119,6 ± 9,4	120,8 ± 10,9	123,7 ± 6,1	132,3 ± 7,9	136,5 ± 9,1
Gruppe 2 (C4A)	92,3 ± 22,0	96,6 ± 18,2	102,7 ± 24,0	101,2 ± 21,6	105,2 ± 22,6
Gruppe 3 (C4ADex)	120,7 ± 35,9	112,2 ± 25,5	122,3 ± 20,7	135,2 ± 23,4	137,8 ± 22,4
Gruppe 4 (C6R)	98,0 ± 35,3	99,3 ± 33,9	108,8 ± 37,6	113,8 ± 44,1	121,3 ± 40,9
Gruppe 5 (P6A)	190,7 ± 60,8	189,1 ± 62,9	202,1 ± 62,8	216,4 ± 70,1	228,8 ± 80,4
Gruppe 6 (C6A)	175,4 ± 47,1	174,5 ± 54,2	180,1 ± 65,7	201,0 ± 83,5	208,0 ± 85,5

[Tab. 5.2.2.] Mittlere pulmonal-vaskuläre Widerstände [dynes*sec*cm⁻⁵]

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran

Die Angabe der Meßwerte erfolgt als Mittelwert (M) ± Standardabweichung (SD)

In allen Gruppen stieg der pulmonal-vaskuläre Widerstand im Verlaufe der Reperfusion an. Die höchsten Werte wurden in den Gruppen 4 (P6A; Perfadex® nativ) und 5 (C6A; Celsior® nativ) beobachtet, hier wurde antegrad perfundiert. Bei retrograder Perfusion in Gruppe 6 (C6R; Celsior® retrograd) konnte man dagegen relativ niedrige Werte sehen, ungefähr auf Niveau der Gruppen mit kürzerer Ischämiezeit.

Bei vierstündiger Ischämiezeit war der Widerstand mit 92,30 dynes*sec*cm⁻⁵ ± 22,04 dynes*sec*cm⁻⁵ zu Beginn und 105,24 dynes*sec*cm⁻⁵ ± 22,56 dynes*sec*cm⁻⁵ am Ende der Reperfusion in Gruppe 2 (C4A; Celsior® nativ) am niedrigsten. Durch den Zusatz von Dextran zur Celsior®-Lösung erhöhte sich der mittlere Widerstand auf 120,72 dynes*sec*cm⁻⁵ ± 35,93 dynes*sec*cm⁻⁵ nach 10 Minuten Meßdauer und lag nach 50 Minuten sogar bei 137,84 dynes*sec*cm⁻⁵ ± 22,44 dynes*sec*cm⁻⁵. Das Signifikanzniveau wurde nicht erreicht. Beim Vergleich der Gruppe 1 (P4A; Perfadex® nativ) mit den beiden Celsior-Gruppen stellten sich fast identische Werte wie bei Gruppe 3 und etwas höhere Widerstände als bei Gruppe 2 dar. Diese lagen zu Beginn bei 119,65 dynes*sec*cm⁻⁵ ± 9,41 dynes*sec*cm⁻⁵ und stiegen auf 136,47 dynes*sec*cm⁻⁵ ± 9,10 dynes*sec*cm⁻⁵ an.

Bei sechsstündiger Ischämie war ein deutlicher Vorteil durch retrograde Perfusion mit Celsior® (Gruppe 6, C6R) festzustellen, die mittleren Widerstände stiegen von 97,97 dynes*sec*cm⁻⁵ ± 35,28 dynes*sec*cm⁻⁵ auf 121,25 dynes*sec*cm⁻⁵ ± 40,86 dynes*sec*cm⁻⁵ an. Deutlich höhere Meßwerte bei ebenfalls mit Celsior®, aber antegrad perfundierten Lungen waren in Gruppe 5 (C6A) zu beobachten.

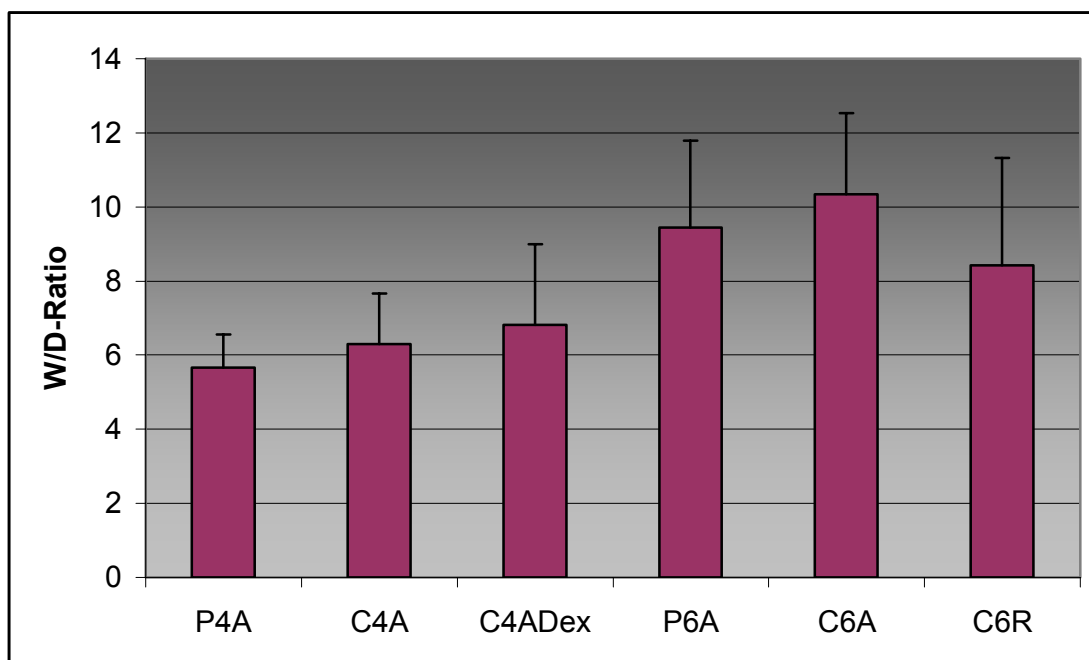
Der Anstieg ging von 175,43 dynes*sec*cm⁻⁵ ± 47,09 dynes*sec*cm⁻⁵ auf 207,98 dynes*sec*cm⁻⁵ ± 85,46 dynes*sec*cm⁻⁵.

Bei Verwendung von Perfadex® (Gruppe 4; P6A) lagen die erreichten pulmonal-vaskulären Widerstände noch höher, nach 10 Minuten Reperfusion schon bei $190,65 \text{ dynes} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5} \pm 60,75 \text{ dynes} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$ und am Ende der 50 Minuten bei $228,85 \text{ dynes} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5} \pm 80,39 \text{ dynes} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$.

Die Ausdehnung der Ischämiezeit ergab also bei antegrader Perfusion einen deutlichen Anstieg der Widerstände, das Signifikanzniveau wurde dabei zwischen Gruppe 2 und den Gruppen 4 und 5 erreicht (Gr. 2 vs. Gr. 4, $p = 0,032$; Gr. 2 vs. Gr. 5, $p = 0,039$). Wurde dahingegen das Prinzip der retrograden Perfusion verwendet, konnte mit Celsior®-Lösung nur ein geringer Anstieg im Vergleich zur nativen antegraden Perfusion festgestellt werden. Ein Vorteil ergab sich, sogar trotz längerer Ischämie, gegenüber Perfadex®-Lösung und der mit Dextran versetzten Celsior®-Lösung. Signifikanzniveaus wurden dabei nicht erreicht.

5.3. Intrapulmonaler Wassergehalt

Beim Betrachten des Feucht-Trocken-Verhältnis konnten deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen festgestellt werden [Abb. 5.3.].



[Abb. 5.3.] Feucht-Trocken-Verhältnisse

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran

[P4A vs. P6A: $p = 0,031$ / P4A vs. C6A: $p = 0,004$ / C4A vs. C6A: $p = 0,012$]

GRUPPE	M [S]	SD [S]
Gruppe 1 (P4A)	5,65	0,91
Gruppe 2 (C4A)	6,29	1,37
Gruppe 3 (C4ADex)	6,82	2,17
Gruppe 4 (C6R)	8,43	2,89
Gruppe 5 (P6A)	9,45	2,35
Gruppe 6 (C6A)	10,35	2,18

[Tab. 5.3.] Mittlere Feucht-Trocken-Ratio

C = Celsior®, P = Perfadex®, A = antegrad, R = retrograd, 4 = 4 Stunden Ischämiezeit, 6 = 6 Stunden Ischämiezeit, Dex = Dextran

Die Angabe der Meßwerte erfolgt als Mittelwert (M) ± Standardabweichung (SD)

Die niedrigsten Werte erreichten die mit Perfadex® konservierten Lungen, aber nur bei kurzer Ischämiezeit, denn die retrograde Perfusion mit Celsior® war bei der verlängerten Ischämiezeit der Perfadex®-Konservierung überlegen.

In Gruppe 1 (P4A; Perfadex nativ) lag das mittlere Verhältnis bei $5,65 \pm 0,91$, damit etwas niedriger als in Gruppe 2 (C4A; Celsior nativ) mit $6,29 \pm 1,37$. Durch den Zusatz von Dextran in Gruppe 3 (C4ADex) stiegen die Werte auf $6,82 \pm 2,17$ an.

Bei der Betrachtung der Gruppen mit längerer Ischämiezeit fiel das niedrigste Verhältnis bei Gruppe 6 (C6R; Celsior retrograd) auf, $8,43 \pm 2,89$. Die Konservierung mit Perfadex® (Gruppe 4, P6A) bewirkte ein etwas höheres Feucht-Trocken-Verhältnis mit einem Mittelwert von $9,45 \pm 2,35$. Die insgesamt höchsten Werte sah man dahingegen bei der antegraden Perfusion mit Celsior® (C6A; Gruppe 5), hier wurde ein mittleres Verhältnis von $10,35 \pm 2,18$ festgestellt.

Beim Vergleich aller Gruppen wurde zwischen Gruppe 1 und 4, bzw. 5 ein jeweils signifikant niedrigeres Verhältnis ermittelt (Gr. 1 vs. Gr. 4, $p = 0,031$; Gr. 1 vs. Gr. 5, $p = 0,004$).

Durch Ausdehnung der Ischämiezeit ergab sich bei Celsior® ein signifikant höheres Verhältnis zwischen Gruppe 2 und Gruppe 5 ($p = 0,012$).

6. Diskussion

6.1. Diskussion der angewandten Technik

6.1.1. Standardbedingungen

Alle Experimente wurden unter standardisierten Bedingungen durchgeführt, fixe Parameter waren der Ablauf der Präparation, die Lagerung in der Ischämiephase, die extrakorporale Reperfusionsphase und die angewendeten Meßmethoden.

6.1.2. Versuchstiere

Zur Gewährleistung eines vertretbaren Kosten-Nutzen-Faktors wurden für die Experimente Ratten ausgewählt, da hierdurch bei relativ geringen Haltungs- und Anschaffungskosten eine ausreichend hohe Fallzahl möglich wird. Bei Screeninguntersuchungen ist diese notwendig, um statistisch gesicherte Aussagen treffen zu können. Zum Einsatz kamen männliche Sprague-Dawley-Ratten des gleichen Inzuchtstammes, übereinstimmend in Alter und Gewicht, die durch Randomisierung den sechs Versuchsgruppen zugeteilt wurden.

6.1.3. Tiermodell

Die Forschung auf dem Gebiet der Lungenkonservierung wird durch experimentelle Tiermodelle dominiert. Nach der Erprobung am in vitro Modell oder der Transplantation an unterschiedlichen Tieren können neue Methoden, Konservierungslösungen und Adjuvantien in die klinische Anwendung übernommen werden.

Zur Verfügung stehen Großtiere, darunter vor allem Hunde, Schweine und Primaten, sowie Kleintiere, wobei besonders Hasen und Ratten häufig eingesetzt werden.

Neben der Wahl des Tieres gibt es zahlreiche Möglichkeiten bei der verwendeten Methode (Übersicht: Abb. 6.1.3)

Großtiermodelle	Kleintiermodelle
Kombinierte Herz-Lungen-Transplantation <ul style="list-style-type: none"> - orthotop/heterotop - heterotop: Herz + linke Lunge Doppellungentransplantation Einzellungentransplantation Autotransplantation <ul style="list-style-type: none"> - Langzeitversuch - Akutexperiment Allotransplantation <ul style="list-style-type: none"> - Langzeitversuch - Akutexperiment - mittelfristige Versuche Simulierte in situ-Autotransplantation Isoliert perfundierte Lungen/Lobi	Ratten <ul style="list-style-type: none"> - Isograftexperimente - extrakorporale Zirkulation Hasen <ul style="list-style-type: none"> - Isograftexperimente - Isoliert perfundierte Lungen - extrakorporale Zirkulation

[Tab. 6.1.3.] Tiermodelle

Aufgrund der vielfältigen Variationsmöglichkeiten ergeben sich Schwierigkeiten beim Vergleich der Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen, weiterhin kann ein „optimales“ Tiermodell nicht definiert werden.

Die kombinierte Herz-Lungen-Transplantation am Großtier ist ein akzeptiertes Modell, allerdings wird die isolierte Betrachtung der Lungenfunktion durch die gleichzeitige Herzverpflanzung erschwert oder unmöglich gemacht. Eine verminderte Lungenfunktion kann auch das Ergebnis inadäquater Konservierung und Funktion des Myokards darstellen und limitiert die Aussagekraft dieses Modells beträchtlich, wenn isoliert die Lungenkonservierung betrachtet werden soll (Kirk et al., 1993).

Die Doppellungentransplantation ist möglicherweise das ideale Modell zur Erfassung der Konservierungsqualität, geht aber mit einer hohen operativen Mortalität einher und ist technisch nicht ohne die Verwendung der Herz-Lungen-Maschine durchführbar, was einen hohen technischen und finanziellen Aufwand bedeutet, weshalb sich diese Methode für den routinemäßigen Einsatz nicht eignet.

Die Mehrzahl der Großtierversuche setzt deshalb die Einzellungentransplantation ein, vorzugsweise als Autotransplantation, um mögliche Abstoßungsreaktionen auszuschließen.

Die Autotransplantation gestaltet sich allerdings häufig technisch schwierig und geht mit einer erhöhten Inzidenz von pulmonalen thrombotischen Ereignissen einher, die sich negativ auf die Lungenfunktion auswirken können.

Als Methode der Wahl werden daher akute Allotransplantationsmodelle angesehen.

Die isolierte Betrachtung der transplantierten Lunge wird durch die Abklemmung oder Pneumektomie der kontralateralen Lunge erreicht, die allerdings einen akuten Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes bewirkt und die Auswertung von ermittelten hämodynamischen Parametern erschwert. Die Funktionen des Gasaustausches und der Hämodynamik hängen dagegen direkt von der Konservierungsqualität ab und haben zur Verbreitung und Akzeptanz dieses Modells geführt (Haverich et al., 1985; Novick et al., 1992).

Um eine Abstoßungsreaktion und Anastomosenschwierigkeiten auszuschließen, wurden Experimente mit in situ Ischämie durchgeführt, d.h. die Beobachtung der Auswirkungen der isolierten Ischämie ohne den sogenannten „Transplantationsstreß“. Dabei treten gehäuft anästhesiologische Probleme auf, wodurch meist nur kurze Ischämiezeiten möglich sind. Mit isoliert perfundierten Organen von Großtieren konnte dieses Problem gelöst werden und Zeiten bis zu 24 h erreicht werden. Nachteil ist der hohe finanzielle und experimentelle Aufwand, damit empfehlen sich besonders Kleintiere für isolierte Perfusionsmodelle mit einem vernünftigen Kosten-Nutzen-Verhältnis.

Durch den Einsatz von Kleintieren sind relativ hohe Versuchszahlen in kurzer Zeit und bei niedrigen Kosten möglich. Als ex vivo-Experimente dienen extrakorporale Perfusionsmodelle, wobei die Versuchsdauer recht kurz ist, da frühzeitig eine pulmonale Hypertonie und starke Ödembildungen auftreten können und die Aussagekraft vermindern. Unterscheiden kann man Herz-Lungenmodelle mit erhaltener Herzfunktion und Modelle, bei denen die Herzfunktion durch hydrostatische Perfusion oder eine Pumpe ersetzt wird. Als Maß der Konservierungsqualität dienen neben Beatmungs- und Oxygenierungsparametern auch Messungen des Gehalts an energiereichen Phosphaten oder Glucosemetaboliten (Christie et al., 1994; Hirata et al., 2000). Als großer Vorteil der ex vivo-Ansätze ist die Möglichkeit der Standardisierung zu sehen. Hierdurch können einzelne Parameter wie die Perfusionsrate oder Beatmungsvolumina konstant

gehalten werden und gleichzeitig Variationen der zu untersuchenden Variablen fokussiert betrachtet werden (Wang et al., 1990).

Eine Vielzahl an in vivo-Modellen ist entwickelt worden und bringt den Vorteil detaillierter Untersuchungsmöglichkeiten mit sich, limitierend sind dabei meist nur die Größenverhältnisse, die z.B. die Messungen von Cardiac Output und pulmonalem Gefäßwiderstand erschweren und wiederum die Aussagekraft dieser Versuche vermindern (Maruyama et al., 1994).

Die Anwendung von genetisch identischen Ratten eines Stammes erlaubt Ansätze der Isografttransplantation und schließt damit Abstoßungsreaktionen ebenfalls aus.

Kleintiermodelle haben so ihren berechtigten Platz in der Forschung auf dem Gebiet der Lungenkonservierung als Screeningmethode, um schnell und effektiv wichtige Sachverhalte und Faktoren zu untersuchen, bevor diese im Großtiermodell angewendet werden (Kirk et al., 1993).

Für die Untersuchung grundlegender pathophysiologischer Fragestellungen sind in vitro-Modelle interessant, an denen isolierte Zellen oder Zellverbände eingesetzt werden (Spaggiari et al., 1995; Cardella et al., 2000). Die Gewinnung neuer Erkenntnisse auf zellulärer und molekularer Ebene während der verschiedenen Phasen der Lungenkonservierung wird durch diese Versuchsansätze möglich, wobei man diese Modelle vor allem als Ergänzung zu den Tiermodellen zu sehen hat, da klinisch letztendlich die Gesamtfunktion des Organs relevant ist.

Für die Untersuchungen wurde ein extrakorporales Lungenmodell der Ratte gewählt, das sich in zahlreichen früheren Experimenten der Arbeitsgruppe bewährt hat (Fukuse et al., 1996b; Albes et al., 1997a, 1997b). Unter standardisierten Bedingungen mit Kontrolle des Lungenvolumens, der Flußgeschwindigkeit des Perfusats und dessen Zusammensetzung können relativ einfach die Funktionen des Gasaustausches, der Atemwegsmechanik und Hämodynamik untersucht werden. Ein Nachteil ist die größere Tendenz zur Entwicklung eines spontanen Lungenödems und pulmonaler Hypertension bereits nach kürzeren Ischämiezeiten als bei in vivo-Modellen (Novick et al., 1992).

Es gibt zwei vorstellbare Varianten eines extrakorporalen Lungenmodells, einmal mit arbeitendem Herzen oder dem Ersatz der Pumpfunktion durch einen hydrostatischen Druckgradienten oder einen pulsatilen Fluß mittels einer Rollerpumpe.

Zunächst erscheint es sinnvoll, den zusätzlichen Unsicherheitsfaktor „Herzkonservierung“ auszuschalten, was neben einer methodischen Vereinfachung auch eine Fokussierung auf die Konservierung der Lunge zuläßt.

Ersetzt man die Herzfunktion durch einen hydrostatischen Druckgradienten, besteht die Gefahr eine Verfälschung der Oxygenierungskapazität bei schlecht konservierten Lungen zu provozieren, da diese höhere pulmonal-vaskuläre Widerstände haben und damit die Flußrate des Perfusats durch die Lunge sinkt. Durch die verlängerte Kontaktzeit der Erythrozyten mit dem intraalveolären Raum beobachtet man so, trotz schlechter Konservierungsqualität, falsch erhöhte Sauerstoffpartialdrücke.

Aus diesem Grund wurde in diesem Modell eine Mikrorollerpumpe eingesetzt, die in der Lage ist, einen nicht pulsatilen Flow zu erzeugen und konstant zu halten. Somit können der pulmonalarterielle Druck und Widerstand als abhängige Variablen gewählt werden.

Erfolgt in der Reperfusionsphase in den ersten (kritischen) Minuten die Reperfusion mit physiologischen Druckwerten, so tritt eine stärkere Schädigung des Transplantats auf, die durch eine initiale zehnminütige Begrenzung auf 50 % des physiologischen Druckes verhindert werden kann. Diese Beobachtungen zeigten sich als unabhängig von der Art der Konservierungslösung und Ischämiezeit (Bhabra et al., 1996).

In weiteren Studien wurden gleichfalls die Vorteile einer kontrollierten Reperfusion mit niedrigen Druckwerten beschrieben (Halldorsson et al., 2000; Fiser et al., 2002), weshalb in dem verwendeten Modell ein derartiges Protokoll zum Einsatz kam. Zu Beginn wurden die Lungen mit einer Flußrate von 1 ml/min perfundiert, diese wurde bis zur achten Minute schrittweise um 1 ml/min erhöht und ab diesem Zeitpunkt für die gesamte Versuchszeit konstant bei 8 ml/min gehalten.

Neuere Untersuchungen an einem extrakorporalen Perfusionsmodell am Schwein zeigten keine Nachteile dieser eigentlich unphysiologischen nicht-pulsatilen Methode gegenüber der pulsatilen Perfusion (Brandes et al., 2002).

Um die Funktion der Versuchslunge untersuchen zu können, muß neben der Beatmung die Reperfusion mit desoxygeniertem Blut erfolgen.

Dadurch werden die physiologischen Verhältnisse imitiert und erlauben die Erfassung von realistischen Meßparametern, z.B. Oxygenierungskapazität und Sauerstoffpartialdruck.

Bei einem sogenannten „geschlossenen“ System, wie in diesem Versuch, kann die Desoxygenierung in einem weiteren, quasi in Serie nach der Versuchslunge geschalteten Versuchstier in dessen Systemkreislauf erfolgen. Dies bringt wiederum eine Reihe von nicht beeinflussbaren Faktoren, z.B. hämodynamischer oder hormoneller Art mit sich (DeCampos et al., 1993). Deshalb wurde in der vorliegenden Studie ein künstlicher Desoxygenator verwendet, der durch den kontinuierlichen Zustrom von Stickstoff und Kohlendioxid ein konstant desoxygeniertes Reperfusat bereitstellte.

Durch die beschriebenen Maßnahmen wurden die Störfaktoren minimiert und standardisierte Bedingungen für die experimentellen Untersuchungen geschaffen.

6.1.4. Perfusionsbedingungen

Die derzeit übliche klinische Praxis der Lungenkonservierung ist die hypotherme Flushperfusion über die Pulmonalarterie mit 40 - 60 ml/kg KG einer Konservierungslösung in Verbindung mit topischer Kühlung durch kalte Kochsalzlösung bei gleichzeitiger Beatmung. Dieser empirische Wert gewährleistet eine gleichmäßige Abkühlung und das rasche Ausspülen des Blutes aus dem pulmonalen Gefäßbett (Kelly, 2000). Die verwendeten Ratten in der Gewichtsklasse zwischen 400 und 500 g wurden dementsprechend mit 20 ml Konservierungslösung pro Tier geflusht. Die ausströmende Lösung war dabei bei allen Tieren klar und frei von Blut.

Mit einem hydrostatischen Druck von 20 cm/H₂O wurde der Flush standardisiert und gewebeschonend durchgeführt.

6.1.5. Lagerungsbedingungen

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, daß eine Lagerungstemperatur von 10 °C anderen Temperaturen überlegen ist und dementsprechend zu favorisieren sei (Nakamoto et al., 1992; Shiraishi et al., 1994). Der optimale Inflationszustand ist ebenso bedeutend für die „postoperative“ Lungenfunktion. Eine Studie konnte

zeigen, daß Hyperinflation eher schädliche Auswirkungen hat und das optimale Volumen ca. 50 % der totalen Lungenkapazität beträgt (DeCampos et al., 1998).

Die Lungen in diesem Experiment wurden nach der Präparation im inflatierten Zustand vollständig in die jeweilige Konservierungslösung eingetaucht und bei 10°C kühl gelagert.

6.1.6. Reperfusat

Die Frage nach dem optimalen Reperfusat kommt durch die Tatsache auf, daß für den oben beschriebenen Versuchsansatz pro Experiment ein Reperfusionsvolumen von ca. 1200 ml benötigt wird. Mit autologem bzw. homologem Blut könnte dies bei einem möglichen Spendervolumen von 6 ml pro 100 g Körpergewicht bei Ratten nur mit einer ethisch unvertretbar hohen Anzahl an Spendertieren durchgeführt werden.

In einer Vielzahl von extrakorporalen Lungenmodellen wurde deshalb auf sog. kristalloide Lösungen zurückgegriffen. Diese führen aber zu einer starken Ödembildung in den reperfundierten Organen und besitzen ohne Erythrozyten, den physiologischen Sauerstoffträgern, nur die Fähigkeit zur physikalischen Sauerstoffaufnahme und -abgabe und schränken die Aussagekraft solcher Experimente stark ein (Fukuse et al., 1996a).

Für das eingesetzte Reperfusat wurde die sogenannte Krebs-Henseleit-Lösung (KH), eine routinemäßig verwendete kristalloide Perfusionslösung, mit gewaschenen Rindererythrozyten auf einen Hämatokrit von 38 % aufgesättigt. Möglich ist dies wegen der überraschenden immunologischen Uniformität aller Säugetiererythrozyten (Fukuse et al., 1995) und die angewandte Aufbereitung zu einem „Erythrozytenkonzentrat“ durch zweimalige Zentrifugation und Auswaschung mit isotoner Kochsalzlösung. Als weitere Maßnahme zur Leukozytendepletion wurden in den Versuchskreislauf noch zwei Leukozytenfilter eingeschaltet, da hierdurch bereits ein geringeres Ausmaß der Schädigung während der Reperfusion nachgewiesen werden konnte (Levine et al., 2000).

In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, daß die Anwendung der oben beschriebenen modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung im direkten Vergleich zur nativen KH-Lösung zu geringfügigeren Reperfusionsschäden führt. Dies wurde mit den antioxidativen Substanzen und Puffereigenschaften der Erythrozyten begründet (Fukuse et al., 1995).

Während der gesamten Reperfusionphase wurden die Temperatur und der pH-Wert konstant gehalten, um Verschiebungen der Sauerstoffbindungskurve zu verhindern und reproduzierbare Bedingungen für den Vergleich zwischen verschiedenen Gruppen zu erhalten.

6.1.7. Versuchsparameter

Zur Beurteilung der Konservierungsqualität stehen vielseitige Möglichkeiten der Beurteilung zur Verfügung. Von besonderem klinischem Interesse sind die funktionellen Parameter der Oxygenierung, Ventilation und Hämodynamik. Für das Verständnis der pathophysiologischen Abläufe des Ischämie-Reperfusionsschadens stehen wiederum Erkenntnisse auf zellulärer und biochemischer Ebene im Mittelpunkt der Betrachtung. Durch einfache Beobachtungen, wie die Flüssigkeitszunahme während der Reperfusion, können diese Erkenntnisse in Relation zur verwendeten Konservierungsmethode gestellt werden (Kirk et al., 1993). Die funktionelle Beurteilung betrachtet die absolute Oxygenierungsleistung der Lunge, wobei diese als Parameter mit der größten Aussagekraft in Relation zur Konservierungsqualität gesehen wird.

Mit der Erfassung des pulmonal-inspiratorischen Spitzendruckes (PIP) bei konstant gehaltenen Respirationseinstellungen kann ein Rückschluß auf die Lungencompliance gezogen werden.

Im Rahmen der Hämodynamik ist der pulmonal-vaskuläre Widerstand (PVR) ein Maß für die Schädigung des pulmonalen Gefäßbettes, wobei je nach Modell die Aussagekraft der ermittelten Werte gesondert zu betrachten ist. Durch die pulmonale Denervierung, Gefäßanastomosen oder die Ausklemmung einer ganzen Lungenhälfte sind starke Schwankungen beobachtbar, die nicht unmittelbar Rückschlüsse auf die Konservierungsqualität erlauben (Haverich et al., 1985; Kirk et al., 1993).

Um eine Aussage über die Funktion des pulmonalen Gefäßsystems vor der Ischämiephase zu erhalten, kann die Flushzeit, d.h. die Dauer der Passage einer Lösung durch das Gefäßsystem, betrachtet werden. Unterschiede können aber auch schon bei differenter Viskosität, Temperatur und Zusammensetzung der Flushlösung beobachtet werden.

Das Ausmaß eines Lungenödems wird durch die Ermittlung des Feucht-Trocken-Verhältnisses bestimmt, dieses spiegelt die Flüssigkeitszunahme durch die Reperfusion wieder. Der Entwicklung eines Ödems liegt die Zunahme der Kapillarpermeabilität und Störung der Membranintegrität zugrunde. Dieser Parameter weist allerdings eine große Heterogenität auf und besitzt nicht die nötige Sensitivität, um als bedeutender Meßwert angesehen zu werden (Kirk et al., 1993).

6.2. Diskussion der Ergebnisse

Aus Gründen der Übersichtlichkeit werden die verschiedenen Ergebnisse bei sechs untersuchten Gruppen einzeln behandelt. In den jeweiligen Abschnitten wird dabei gesondert auf die Zusammenhänge zwischen den Parametern hingewiesen.

6.2.1. Absolute Oxygenierungskapazität

Alle Lungen erreichten eine zufriedenstellende postischämische Oxygenierungskapazität. Nur die mit Celsior[®] konservierten Lungen zeigten bei Verlängerung der Ischämiezeit zum Teil gravierende Ischämie-Reperfusions-Schäden, die in zwei Fällen zum Abbruch des Versuches in der Reperfusionsphase führten. Bei vierstündiger Ischämiezeit erbrachte die Celsior[®]-Lösung bessere Oxygenierungsleistungen als die Perfadex[®]-Lösung, allerdings ohne statistisch signifikantes Niveau zu erreichen. Durch den Zusatz von Dextran zur Celsior[®]-Lösung konnte das gute Ergebnis noch verbessert werden und es ergab sich ein mit $p = 0,002$ signifikanter Unterschied. Im Gegensatz zum schlechtesten Resultat nach kurzer Ischämie zeigt sich bei der Perfadex[®]-Lösung eine sehr gute Oxygenierungskapazität im Gruppenvergleich nach sechs Stunden Ischämie. Bei dieser Ischämiedauer kommt es bei der Celsior[®]-Lösung dagegen zu massiv schlechteren Ergebnissen, die im Vergleich zur dextranhaltigen Celsior[®]-Lösung sogar signifikant unterlegen sind ($p = 0,011$). Wurde die Konservierungslösung bei sechs Stunden Ischämie allerdings retrograd appliziert, war dieser Abfall geringer ausgeprägt und die Lungenfunktion nur geringfügig schlechter als nach vier Stunden Ischämie und im Vergleich zur antegraden Perfusion und sechs Stunden Ischämie signifikant besser ($p = 0,024$). Die Oxygenierungsleistung bei der retrograden Celsior[®]-Applikation war sogar der nativen Perfadex[®]-Lösung signifikant ($p = 0,036$).

überlegen, obwohl in diesem Fall bei der Celsior®-Konservierung die Ischämiezeit zwei Stunden länger war. Dies verdeutlicht die Bedeutung des Applikationsweges, da bei retrograder Verabreichung auch der Bronchialkreislauf, die sog. Vasa privata der Lunge erreicht wird.

Bei der mit Dextran versetzten Celsior®-Lösung konnte ein annähernd konstantes Verhalten der Oxygenierungskapazität in dieser Gruppe beobachtet werden.

Dextran spielt in der Lungenkonservierung eine große Rolle und führte durch den Einsatz in der sog. kaliumarmen Dextran-Lösung (bzw. Perfadex®) zu einer bedeutsamen Verbesserung der Konservierungsqualität [Kap. 2.5.3./6.3.]. Es besitzt neben antiödematösen und antithrombotischen Eigenschaften auch positive Einflüsse auf den mikrovaskulären Flow. Die native Celsior®-Lösung besitzt bereits impermeable Substanzen, das Mannitol und Laktobionat, Dextran scheint aber durch seine Gesamtheit an Wirkungen die Konservierungsqualität auf vielfältigen Ebenen zu verbessern.

Vergleicht man direkt die Auswirkungen der beiden verwendeten Konservierungslösungen, so kommt man zum Schluß, daß die anfängliche Überlegenheit der Celsior®-Lösung sich nach Ausweitung der Ischämiezeit umkehrt und man dementsprechend von einer verlängerten Erholungsphase bei der Perfadex®-Konservierung sprechen kann, während die Celsior®-Konservierung stark abfällt. Zwei Verbesserungsansätze der Celsior®-Lösung (Dextranzugabe und veränderter Applikationsweg) zeigten sehr positive Resultate. Dies läßt vermuten, daß hierdurch die Schwächen von Celsior® bei längeren Ischämiezeiten ausgeglichen werden können und eventuell bessere Resultate als mit der derzeitigen Standardlösung, nämlich Perfadex®, möglich werden.

6.2.2. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck

Der pulmonal-inspiratorische Spitzendruck verhält sich umgekehrt proportional zur Compliance der Lunge und korreliert positiv mit dem Ödemgrad derselbigen.

Das beste Resultat konnte bei der retrograden Applikation von Celsior®-Lösung beobachtet werden, dies unterstreicht die theoretische Bedeutung dieser Methode, bei der auch die Vasa privata der Lunge durch Konservierungslösung gespült wird [s. Kap. 6.3.4]. Ähnliche Ergebnisse wurden mehrfach nachgewiesen und stellten den retrograden Flush besonders in Bezug auf die Atemwegsfunktion gegenüber der

rein antegraden Perfusion als überlegen dar. Eine Arbeitsgruppe untersuchte den Einfluß des Applikationsweges im direkten Vergleich an Schweinen und wies niedrigere Atemwegsdrücke bei simultaner und signifikant reduzierte Drücke bei rein retrograder Perfusion nach. Insgesamt betrachtet war die Qualität der retrograd konservierten Lungen der antegraden Gruppe in diesen Experimenten aber nicht überlegen (Bitu-Moreno et al., 1999).

Ein signifikantes Niveau konnte aber nur beim Vergleich mit der antegraden Perfadex®-Gruppe mit vier Stunden Ischämie erreicht werden ($p = 0,012$). Trotz deutlicher Überlegenheit gegenüber der antegraden Celsior®-Gruppe bei sechs Stunden Ischämie verfehlte die retrograde Perfusion aufgrund stark schwankender Varianz in dieser Gruppe signifikantes Niveau.

Der Zusatz von Dextran zur Celsior®-Lösung hatte nur geringe Verbesserung zur Folge und war trotz längerer Ischämiezeit der retrograden Perfusion deutlich unterlegen.

Bemerkenswert ist das Verhalten des pulmonal-inspiratorischen Spitzendrucks in der Perfadex®-Gruppe bei sechsstündiger Ischämie, hier wurde ein regelmäßiger Anstieg der Meßwerte auf fast das Doppelte des Ausgangswertes beobachtet. Dies korreliert mit einer schlechten Konservierungsqualität der Atemwege in dieser Gruppe mit starker Auswirkung des Ischämie-Reperfusionsschadens auf die Atemwege.

6.2.3. Flushzeit

Die Länge der Flushzeit wird durch die Temperatur, den Kaliumgehalt und die Viskosität der Konservierungslösung maßgeblich beeinflusst, darüber hinaus spielt der Gefäßwiderstand im Organ eine nicht unerhebliche Rolle.

Bei allen Versuchen wurde, dem klinischen Standard entsprechend, die Flushtemperatur bei 4 °C gewählt.

In den letzten Jahren wurde mehrfach nachgewiesen, daß die Verwendung kaliumarmer Konservierungslösungen den intrazellulären Lösungen, mit einem Kaliumgehalt zwischen 115 mmol/l bis zu 140 mmol/l, vorzuziehen ist. Die beim Flush beobachtete Vasokonstriktion, mit dem Resultat einer inhomogenen Perfusatverteilung, wird mit den heute verwendeten extrazellulären Lösungen geringer ausgeprägt beobachtet (Albes et al., 1997a).

In den vorliegenden Experimenten wurde auf die Gabe zusätzlich vasodilatierend wirkender Adjuvantien gänzlich verzichtet, wohingegen klinisch die Flushperfusion meist mit systemischer Prostazyklingabe verbunden ist.

Die beiden verwendeten Lösungen sind beide vom extrazellulären Typ, wobei der Kaliumgehalt der Celsior®-Lösung mit 15 mmol/l etwas höher ist als die 6 mmol/l der Perfadex®-Lösung.

Im Gegensatz dazu stehen die erzielten Ergebnisse mit signifikant längeren Flushzeiten der Perfadex®-Lösung vs. Celsior® bei vier Stunden Ischämie, allerdings nicht signifikant bei den Gruppen mit sechsstündiger Ischämie. Mögliche Ursache kann der deutlich höhere Magnesiumgehalt von Celsior® sein, der die Kalziumhomöostase in den glatten Muskelzellen beeinflusst. Es kommt dabei zu geringeren intrazellulären Kalziumkonzentrationen und damit zu einem verminderten Gefäßtonus.

In den vorliegenden Untersuchungen verliert die Auswertung der Flushzeit aber an Aussagekraft, da im Vergleich zwischen Gruppen mit gleicher Lösung stark differente Werte gemessen wurden, wobei der einzige Unterschied erst die Länge der folgenden Ischämiezeit war.

6.2.4. Pulmonal-vaskulärer Widerstand

Der Gefäßwiderstand der pulmonalen Strombahn dient als Maß für die Konservierungsqualität des sensiblen Gefäßsystemes, das durch Ischämie und nachfolgende Reperfusion besonders stark geschädigt wird. Es ist schon länger bekannt, daß die ermittelten Werte nicht immer exakt die Konservierungsqualität widerspiegeln, oder z.B. mit den Oxygenierungsleistungen übereinstimmen. Dies wird beispielsweise mit der Reaktion einer Lunge auf die alleinige Denervierung begründet, dabei wurden erhöhte pulmonal-vaskuläre Widerstände ohne Ischämie-Einwirkung gemessen (Haverich et al., 1985).

Eine intakte Gefäßfunktion ist im Rahmen einer Transplantation sehr bedeutend, da Dysfunktionen zu Vasokonstriktion, Thrombozytenaggregation und Thrombosen führen können und daraus eine Gewebsschädigung bis zur Nekrose entstehen kann. Durch vermehrte Expression von Komplementrezeptoren erhöht das geschädigte Endothelium auch das Risiko für eine Abstoßungsreaktion (Ingemansson et al., 1995).

Die Anwendung einer Pumpenperfusion während der Reperfusionsphase in diesem Modell führt zu einer gewissen Dysregulation des normalen Gefäßtonus. Diese Tatsache wurde für Skelettmuskulatur nachgewiesen, es ist aber anzunehmen, daß an der Lunge ähnliche Effekte auftreten (Jahr & Grande, 1997).

Aufgefallen sind tendenziell höhere Werte bei Verwendung von Perfadex® im Vergleich zu Celsior®. Bei vier Stunden Ischämie wurden mit nativer Celsior®-Lösung die niedrigsten Widerstände ermittelt, durch die Zugabe von Dextran stiegen diese leicht an und waren fast identisch zur Perfadex®-Lösung. Signifikante Unterschiede ergaben sich hierbei nicht. Bei der retrograden Perfusion war trotz längerer Ischämie kein Anstieg zu verzeichnen, der Gefäßwiderstand lag sogar niedriger, als bei Celsior® mit Dextran. Auch bei sechs Stunden Ischämie ergaben sich für Perfadex® die höchsten Widerstandswerte, signifikant war der Vergleich mit nativer Celsior®-Lösung bei vier Stunden Ischämie ($p = 0,032$). Die native Celsior®-Gruppe war bei sechs Stunden etwas besser, trotzdem signifikant schlechter im Vergleich zur kürzeren Ischämiezeit ($p = 0,039$). Auffallend ist die mangelnde Übereinstimmung mit den sonstigen Parametern, da Perfadex® bei längerer Ischämiezeit klinisch und in Bezug auf die Oxygenierungsleistung Celsior® deutlich überlegen ist.

6.2.5. Feucht-Trocken-Ratio

Das Feucht-Trocken-Verhältnis spiegelt den Wassergehalt der Lungen und damit das Ausmaß des im Laufe des Versuches entstandenen Lungenödems wieder.

Perfadex®-Lösung konnte bei vier Stunden Ischämie die Ausprägung eines Ödems am wirkungsvollsten verhindern, die mit Celsior® konservierten Lungen waren nur geringfügig schlechter und erstaunlicherweise war das Ergebnis der mit Dextran versetzten Lösung am schlechtesten. Dies steht im Gegensatz zu den sonstigen Parametern, z.B. der Oxygenierungsleistung, bei der Celsior®-Lösung mit Dextran am besten abschnitt. Bei Ausweitung der Ischämie auf sechs Stunden ist dagegen die retrograde Perfusion mit dem geringsten Ödemgrad verbunden gewesen. Der Wassergehalt war höher als bei Celsior® bei kurzer Ischämie, aber nicht signifikant schlechter.

Eine Mittelstellung nimmt bei sechsständiger Ischämie die Perfadex®-Lösung ein, der Vergleich mit derselben Lösung bei kurzer Ischämie ergab einen signifikanten Unterschied ($p = 0,031$).

Die stärkste Ödemausprägung wurde bei nativer Celsior®-Lösung festgestellt, signifikant höher als bei den nativen Lösungen mit vier Stunden Ischämie (C6A vs. P4A: $p = 0,004$ / C6A vs. C4A: $p = 0,012$), was auch mit dem klinischen Bild dieser Lungen konform war.

Trotz guter Korrelation des Feucht-Trocken-Verhältnisses mit den anderen Parametern in den vorliegenden Untersuchungen gilt dieser Wert als relativ unsichere Beurteilungsgrundlage für die Konservierungsqualität, da z.B. auch Blutextravasationen den Flüssigkeitsgehalt in transplantierten Lungen erhöhen können (Haverich et al., 1985). Kompliziertere Verfahren, z.B. mit Radiotracern oder speziellen Kathetern zur Echtzeitmessung, sind sensitiver und besser geeignet, um Aussagen über die Ödemausprägung zu treffen (Kirk et al., 1993). Im Rahmen eines effektiven und kostengünstigen Kleintiermodells wurde auf solche Messungen in dieser Versuchsreihe verzichtet.

6.3. Interpretation der Einflüsse von Celsior®, Perfadex® und Dextran

Die Perfadex®-Lösung entspricht dem heutigen klinischen Standard bei der Lungentransplantation, es ist eine kaliumarme Dextranlösung, die der extrazellulären Elektrolytzusammensetzung entspricht. Diese Art von Lösung wurde speziell für die Lungenkonservierung entwickelt und war der Euro-Collins-Lösung oder UW-Lösung [Kap. 2.5.3.] überlegen, die bis dahin standardmäßig eingesetzt wurden. Neben einer besseren Transplantatfunktion überzeugen die kaliumarmen Dextranlösungen durch eine geringere toxische Wirkung auf Pneumozyten, Endothelialzellen und die Surfactantfunktion. Erklärbar scheint dies mit homogener Verteilung der Perfusionslösung und verbessertem mikrozirkulärem Blutfluß während der Flushphase. Durch die Zugabe von Glukose wurde dieser Lösungstyp weiter moduliert, und entspricht damit dem kommerziellen Produkt Perfadex® (de Perrot & Keshavjee, 2001). Die Glukose dient als metabolisches Substrat für den aeroben Stoffwechsel, der in den inflatierten Lungen während der Ischämiephase damit stattfinden kann (Date et al., 1993).

Durch den sehr niedrigen Kaliumgehalt von 6 mmol/l besitzt Perfadex® eine nur geringe vasokonstriktorische Potenz und ermöglicht so die beschriebene homogene Verteilung bei einer Flushperfusion (Kimblad et al., 1994; Albes et al., 1997a). Desweiteren ist in Perfadex® Dextran enthalten (MG 40000), dessen positive

Eigenschaften in seiner antiödematösen Wirkung und der Verbesserung des mikrovaskulären Flusses liegen [Kap. 2.5.3.].

Celsior® gehört gleichfalls zu den extrazellulären Lösungen (Kaliumgehalt = 15 mmol/l), enthält nativ allerdings kein Dextran, sondern Mannitol und Raffinose als impermeable Substanzen. Obwohl diese Lösung ursprünglich für die Herztransplantation entwickelt wurde, ergibt sich aus theoretischen Gesichtspunkten eine ausgezeichnete Eignung für die Lungentransplantation. Im Gegensatz zu Perfadex® beinhaltet Celsior®, wie die traditionellen intrazellulären Konservierungslösungen, zusätzlich Antioxidantien. Der geringe Kaliumgehalt gewährleistet ein nur geringes vasokonstriktorisches Potential für die pulmonale Strombahn. Antiödematöse Eigenschaften besitzen das enthaltene Mannitol und Laktobionat, als Radikalfänger und Puffersubstanzen dienen reduziertes Gluthathion, Histidin und Mannitol und als energiereiches Substrat ist Glutamat beigefügt. Einer Kalziumüberladung wird durch den hohen Magnesiumgehalt und einen leicht azidotischen pH-Wert vorgebeugt (Menasche et al., 1994; Xiong et al., 1999).

Die Reaktionen der pulmonalen Gefäße auf den Flush waren erwartungsgemäß nur wenig different, da beide Lösungen mit ihrem niedrigen Kaliumgehalt nur eine geringe vasokonstriktorisches Potenz besitzen. Perfadex® hatte trotz einer geringeren Kaliumkonzentration zu tendenziell höheren pulmonal-vaskulären Widerständen geführt. Eindrucksvoll erweist sich die retrograde Perfusion, in dieser Gruppe konnte das beste Konservierungsergebnis des Gefäßsystems von allen Gruppen beobachtet werden. Celsior® muß deswegen durch weitere Mechanismen vasoaktiv wirksam sein. Ein leicht azidotischer pH-Wert und die höhere Magnesiumkonzentration verhindern einen übermäßigen Kalziumeinstrom in die Mitochondrien, womit diese vorzugsweise ATP synthetisieren können. Neben der Funktion als Energieträger besitzt ATP in der Muskelphysiologie die Rolle des „Weichmachers“ und es ist anzunehmen, daß dies auch einen verminderten Tonus der glatten Muskulatur der Bronchien und Pulmonalgefäße zur Folge hat.

Das in Celsior® enthaltene reduzierte Gluthathion wirkt neben der direkten Pufferwirkung durch mehrere Mechanismen als potentes Antioxidans. Es ist ein Ko-Faktor der Peroxidase, dem Schlüsselenzym für die Abpufferung freier Radikale.

Ebenso stabilisiert das Gluthathion die Thiolgruppen membrangebundener Proteine im reduzierten Zustand, der für eine optimale Proteinfunktion unerlässlich ist. Zusätzlich bewirkt ein Verhältnis zugunsten der reduzierten Form des Gluthathions durch die exogene Zufuhr ebenso einen verminderten Kalziuminflux in Mitochondrien mit oben beschriebener Wirkung (Menasche et al., 1994). Den Erhalt der ATP-Synthese gewährleistet synergistisch der Zusatz von Glutamat zur Celsior®-Lösung. Aus Glutamat können unter anaeroben Bedingungen energiereiche Phosphate gewonnen werden.

In den Versuchsergebnissen zeigte sich ein niedrigerer Tonus der Bronchien in den Celsior®-Gruppen im Vergleich zur Perfadex®-Lösung. Bei sechs Stunden Ischämie waren bei Celsior® die hohen pulmonal-inspiratorischen Spitzendrücke dahingegen mit der beobachteten schlechten Konservierungsqualität konform.

Das Histidin, ein weiteres Antioxidans in Celsior®, wurde ursprünglich wegen seiner ausgezeichneten Pufferungskapazität für Wasserstoffionen bei niedrigen Temperaturen ausgewählt (Rahn et al., 1975; Bernard et al., 1985). Erst später zeigte sich, daß diese Aminosäure auch ein wirksamer Fänger freier Sauerstoffradikale ist (Vinnikova et al., 1992), die im wesentlichen durch zwei Mechanismen zu einer Kalziumüberladung führen. Die Inaktivierung der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase hat einen intrazellulären Natriumüberschuß zur Folge, der zu einem verminderten $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ -Austausch mit reduziertem Kalziumefflux führt. Außerdem führt die Hemmung der sarkoplasmatischen Ca^{++} -ATPase wegen des insuffizienten Rücktransportes ins sarkoplasmatische Retikulum zum Anstieg der Kalziumkonzentration im Zytosol (Kukreja et al., 1991). Histidin hat durch diese Eigenschaften einen protektiven Effekt auf die Kalziumhomöostase und mindert damit den Ischämie-Reperfusions-Schaden.

Das Mannitol hat neben seiner antiödematösen Wirkung ebenfalls antioxidative Eigenschaften, spezifisch gegen Hydroxylradikale gerichtet (Ferreira et al., 1989). Diese Form der Radikale wird gemeinsam mit den freien Sauerstoffradikalen für die schädlichsten Noxen im Rahmen des Ischämie-Reperfusions-Schadens gehalten (Kelly, 2000; de Perrot & Keshavjee, 2001).

Mit dem beschriebenen Oxidationsschutz lassen sich die beobachteten guten Ergebnisse der Celsior®-Lösung in dieser Studie erklären. Im Gegensatz dazu stehen jedoch die Beobachtungen bei Verlängerung der Ischämiezeit auf sechs Stunden, hier ist die Perfadex®-Lösung der Konservierung mit Celsior® deutlich überlegen.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Lösungen ist das in Perfadex® enthaltene Dextran, dessen Anwendung bei der Lungentransplantation zu bedeutenden Verbesserungen der Konservierungsqualität geführt hatte (Keshavjee et al., 1989; Steen et al., 1994; Ingemansson et al., 1995).

Neben der antiödematösen Eigenschaft des Dextrans und der damit verbundenen Reduktion der im Rahmen des Ischämie-Reperfusions-Schadens auftretenden Zellschwellung übt dieses Molekül zusätzliche positive Effekte aus. Bei unterschiedlichsten Bedingungen verbessert es den mikrovaskulären Flow, führt zur Disaggregation von roten Blutzellen und erhöht deren Verformbarkeit. Ein weiterer günstiger Einfluß ist scheinbar durch antithrombotische Effekte als Resultat des „coating“ von Thrombozyten und Endothelzellen und die Reduktion der Lipidperoxidation bedingt (Chien et al., 2000). Die Kombination dieser Wirkungen ist wahrscheinlich für den Erfolg dieser Substanz bei der Lungenkonservierung verantwortlich. Hieraus entstand die Überlegung, Dextran zu Celsior® hinzuzufügen.

Tatsächlich sind vor allem die Oxygenierungsleistungen in der Celsior®-Dextran-Gruppe allen anderen Gruppen deutlich überlegen, diese gelten als wichtigster Parameter für die Qualität der konservierten Lungen. Die Beobachtung, daß dies nicht unbedingt auch mit den niedrigsten pulmonal-vaskulären Widerständen oder Feucht-Trocken-Ratio einhergeht, wurde bereits früh auf diesem Gebiet der Forschung beschrieben. Daraus entstand die Feststellung, daß erhöhte Meßergebnisse dieser Parameter nicht zwingend das Ausmaß des ischämischen Schadens der Organe auszudrücken vermögen (Haverich et al., 1985).

Diese Ergebnisse sprechen für eine Verbesserung von Celsior® durch die Zugabe von Dextran, obwohl diese Lösung mit Laktobionat und Mannitol bereits antiödematöse Substanzen enthält, und unterstreichen die Bedeutung der gesamten Wirkungen von Dextran. Dies verbietet gleichfalls die Beschränkung von Dextran auf einen reinen antiödematösen Wirkstoff.

6.4. Retrograde versus antegrade Perfusion

Die Mehrzahl an Untersuchungen zur Lungenkonservierung beschränkte sich auf die Modifizierung vorhandener Lösungen, die Entwicklung neuer Lösungen oder die pharmakologische Beeinflussung des Ischämie-Reperfusionsschadens. Die Entwicklung alternativer Applikationswege stand dagegen eher im Hintergrund.

Das Gefäßsystem der Lunge setzt sich aus den pulmonalen und bronchialen (Vasa privata) Arterien zusammen. Das bronchiale Stromgebiet versorgt neben intra- und extrapulmonalen Luftwegen neurovaskuläre Bündel, lymphatische Strukturen und die viszerale Pleura.

Durch eine antegrade Perfusion wird primär das pulmonale Stromgebiet durch Konservierungslösung perfundiert. Dabei kommt es nachgewiesenermaßen zu einer guten Auswaschung des im Organ enthaltenen Blutes, bestätigt durch eine gleichmäßige Entfärbung des Lungenparenchyms. Um ebenso die Bronchialarterien zu perfundieren, kann ein zusätzlicher retrograder Flush durchgeführt werden, der meist erst nach der Explantation und primärer antegrader Konservierung während der Präparationsphase vor dem Transport außerhalb des Spenderkörpers stattfindet. Eine andere Methode ist die alleinige retrograde Perfusion über den linken Vorhof, das pulmonale Venensystem mit den Pulmonalarterien als Ausstrombahn. Dabei beobachtet man aufgrund des geringen vaskulären Widerstandes der venösen Gefäße und der höheren Gesamtzahl an Gefäßen eine hohe Aufnahmekapazität und schnelle Flushzeiten.

Die zu erwartende Folge dieses Verfahrens wäre eine bessere Konservierung der Luftwege und damit ein geringerer Anstieg der Beatmungsdrücke in der Reperusionsphase und weniger Wundheilungsstörungen im Bereich bronchialer Anastomosen. Dies konnte in mehreren tierexperimentellen Studien bestätigt werden [s. Kap. 2.5.4.].

In den vorliegenden Untersuchungen führte die retrograde Celsior[®]-Konservierung bei sechs Stunden Ischämie zu einem deutlich geringeren Ausmaß des Reperusions-Schadens als bei antegrader Perfusion, hierbei war die Mehrzahl der Lungen sogar stark geschädigt. Besonders niedrige pulmonal-inspiratorische Spitzendrücke sprechen für eine gute Konservierung der Luftwege und der Lunge im allgemeinen. Ein gering ausgeprägtes Lungenödem, niedrige vaskuläre Widerstände

und eine gute Oxygenierungskapazität bestätigen insgesamt eine adäquate Konservierung der Organfunktion.

Die retrograde Perfusion mit Celsior[®] führt bei längerer Ischämiezeit zu vergleichbar guten Resultaten wie die antegrade Perfadex[®]-Konservierung, wohingegen Celsior[®] antegrad nur bei kurzer Ischämie eine gute Konservierungsqualität erbringt.

7. Schlußfolgerungen

Nach erfolgreichen tierexperimentellen Untersuchungen wurden in der Vergangenheit immer neuere Perfusionslösungen, Konservierungsbedingungen und medikamentöse Ansatzpunkte auch klinisch eingesetzt und erprobt. Bis sich eine Methode aber als Standard behaupten konnte, verging oft einige Zeit, und es erschien den meisten Zentren für Lungentransplantationen erst angebracht, auf ein neues Verfahren umzusteigen, wenn ein deutlicher Vorteil gegenüber der bekannten und sicher anwendbaren Standardmethode gewährleistet schien. Deutlich ist dies an der Euro-Collins-Lösung zu beobachten, die bis 1997 noch von 77% der Transplantationszentren weltweit eingesetzt wurde, obwohl seit Beginn der neunziger Jahre bereits erfolgreiche Versuche mit Dextranlösungen vorgenommen wurden (Hopkinson et al., 1998).

Mit den kaliumarmen Dextranlösungen sind derzeit Ischämiezeiten zwischen 6 – 8 Stunden mit sehr guten Resultaten möglich. Allerdings ist dies zeitlich nicht ausreichend, um eine HLA-Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger zu ermöglichen. Deshalb und wegen des Mangels an Spenderorganen ist die Entwicklung besserer Konservierungslösungen notwendig, um auch grenzwertig geeignete Organe in Transplantationsprogramme einbeziehen zu können.

Celsior® vereint die Erfahrungen mit verschiedenen Lösungsarten in einem Perfusat und ist sowohl bei der Herz- als auch der Lungentransplantation einsetzbar, was technische Vereinfachungen von Multiorganentnahmen ermöglichen könnte. Besonders ein Zeitgewinn durch beschleunigte Explantation von Spenderorganen wäre wünschenswert. Die Celsior®-Lösung zeigte bei längerer Ischämiezeit einen deutlichen Ischämie-Reperfusions-Schaden, der durch die retrograde Perfusion aber abgemildert werden konnte, weshalb die Ergebnisse von Celsior® mit diesem Applikationsweg von besonderem Interesse scheinen. Die Zugabe von Dextran erbrachte bei vier Stunden Ischämie einen überragenden Vorteil im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen, weshalb die Kombination von retrograder Perfusion und Dextranzusatz zukünftig ebenfalls untersucht werden sollte. Mit den vorliegenden Ergebnissen kann die Ausweitung der klinischen Erprobung von Celsior® erst erfolgen, falls durch die beschriebenen Modifikationen ein Vorteil gegenüber den kaliumarmen Dextranlösungen erreicht werden kann.

Dem Anspruch, als Screeningmethode zu dienen, wird das angewendete Tiermodell in dieser Arbeit gerecht, da hierdurch in relativ kurzer Zeit und kostengünstig richtungsweisende Überlegungen für eine Nachevaluation im Großtiermodell getroffen werden konnten.

In der Verbindung der Celsior[®]-Dextran-Lösung mit der retrograden Perfusion liegt möglicherweise der Schlüssel zu weiteren Fortschritten auf dem Gebiet der Lungenkonservierung. Die Ermöglichung längerer Ischämiezeiten und die Ausweitung der Spenderpools durch Verwendung grenzwertig geeigneter Spenderorgane sollten im Mittelpunkt zukünftiger Untersuchungen stehen.

8. Abbildungen

Abbildungen	Seite
Abb. 4.7. Skizze des extrakorporalen Reperusionsmodell	51
Abb. 4.8.a Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR) [dynes*sec*cm ⁻⁵]	53
Abb. 4.8.b Absolute Oxygenierungskapazität [mmHg]	54
Abb. 5.1.1.a Absolute Oxygenierungskapazität (dPO ₂)	56
Abb. 5.1.1.b Mittlere absolute Oxygenierungskapazitäten	57
Abb. 5.1.2.a Pulmonal-inspiratorische Spitzendrücke	59
Abb. 5.1.2.b Mittlere pulmonal-inspiratorische Spitzendrücke	60
Abb. 5.2.1. Flushzeit	62
Abb. 5.2.2.a Pulmonal-vaskuläre Widerstände	64
Abb. 5.2.2.b Mittlere pulmonal-vaskuläre Widerstände	64
Abb. 5.3. Feucht-Trocken-Verhältnisse	66

9. Tabellen

Tabellen	Seite
Tab. 2.3. Kriterien zur Auswahl von Lungenspendern	20
Tab. 2.5.3. Lungenkonservierungslösungen	30
Tab. 4.2.1. Gruppeneinteilung	45
Tab. 4.6.2. Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Lösung (pro 1000 ml)	50
Tab. 5.1.1. Mittlere absolute Oxygenierungskapazität [%] im zeitlichen Verlauf	57
Tab. 5.1.2. Mittlere pulmonal-inspiratorische Spitzendrücke [mmHg] im zeitlichen Verlauf	60
Tab. 5.2.1. Mittlere Flushzeit [s]	62
Tab. 5.2.2. Mittlere pulmonal-vaskuläre Widerstände [$\text{dynes} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$]	65
Tab. 5.3. Mittlere Feucht-Trocken-Ratio	67
Tab. 6.1.3. Tiermodelle	69

10. Literatur- bzw. Quellenverzeichnis:

1. Aiba M; Yokoyama Y; Snow TR; Novitzky D; and McKeown PP (1992) Effects of allopurinol pretreatment with pulmonary flush on lung preservation. *J Heart Lung Transplant*, 11(6): 1025-30
2. Aiba M; Takeyoshi I; Sunose Y; Iwazaki S; Tsutsumi H; Ohwada S; Tomizawa N; Oriuchi N; Matsumoto K; and Morishita Y (2000) FR167653 ameliorates pulmonary damage in ischemia-reperfusion injury in a canine lung transplantation model. *J Heart Lung Transplant*, 19(9): 879-86
3. Albes JM; Brandes H; Heinemann MK; Scheule A; and Wahlers T (1997a) Potassium-reduced lung preservation solutions: a screening study. *Eur Surg Res*, 29(5): 327-38
4. Albes JM; Fischer F; Bando T; Heinemann MK; Scheule A; and Wahlers T (1997b) Influence of the perfusate temperature on lung preservation: is there an optimum? *Eur Surg Res*, 29(1): 5-11
5. Aoe M; Okabayashi K; Cooper JD; and Patterson GA (1996) Hyperinflation of canine lung allografts during storage increases reperfusion pulmonary edema. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 112(1): 94-102
6. Arcasoy SM, and Kotloff RM (1999) Lung transplantation. *N Engl J Med*, 340(14): 1081-91
7. Ardehali A; Laks H; Levine M; Shpiner R; Ross D; Watson LD; Shvartz O; Sangwan S; and Waters PF (2001) A prospective trial of inhaled nitric oxide in clinical lung transplantation. *Transplantation*, 72(1): 112-5
8. Bacha EA; Sellak H; Murakami S; Mazmanian GM; Detruit H; de Montpreville V; Chapelier AR; Libert JM; Darteville PG; and Herve P (1997) Inhaled nitric oxide attenuates reperfusion injury in non-heartbeating-donor lung transplantation. Paris-Sud University Lung Transplantation Group. *Transplantation*, 63(10): 1380-6
9. Badellino MM; Morganroth ML; Grum CM; Lynch MJ; Bolling SF; and Deeb GM (1989) Hypothermia or continuous ventilation decreases ischemia-reperfusion injury in an ex vivo rat lung model. *Surgery*, 105(6): 752-60
10. Baker CJ; Longoria J; Gade PV; Starnes VA; and Barr ML (1999) Addition of a water-soluble alpha-tocopherol analogue to University of Wisconsin solution improves endothelial viability and decreases lung reperfusion injury. *J Surg Res*, 86(1): 145-9
11. Baldwin JC; Frist WH; Starkey TD; Harjula A; Starnes VA; Stinson EB; Oyer PE; and Shumway NE (1987) Distant graft procurement for combined heart and lung transplantation using pulmonary artery flush and simple topical hypothermia for graft preservation. *Ann Thorac Surg*, 43(6): 670-3

12. Bando T; Albes JM; Fehrenbach H; Nusse T; Schafers HJ; and Wahlers T (1998) Influence of the potassium concentration on functional and structural preservation of the lung: where is the optimum? *J Heart Lung Transplant*, 17(7): 715-24
13. Baretti R; Bitu-Moreno J; Beyersdorf F; Matheis G; Francischetti I; and Kreitmayer B (1995) Distribution of lung preservation solutions in parenchyma and airways: influence of atelectasis and route of delivery. *J Heart Lung Transplant*, 14(1 Pt 1): 80-91
14. Baron O; Fabre S; Haloun A; Treilhaud M; al Habasch O; Duvéau D; Michaud JL; and Despins P (2002) Retrospective clinical comparison of Celsior solution to modified blood Wallwork solution in lung transplantation for cystic fibrosis. *Prog Transplant*, 12(3): 176-80
15. Battafarano RJ; Anderson RC; Meyers BF; Guthrie TJ; Schuller D; Cooper JD; and Patterson GA (2000) Perioperative complications after living donor lobectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 120(5): 909-15
16. Belzer FO (1993) Evaluation of preservation of the intra-abdominal organs. *Transplant Proc*, 25(4): 2527-30
17. Belzer FO, and Southard JH (1988) Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation*, 45(4): 673-6
18. Bernard M; Menasche P; Canioni P; Fontanarava E; Grousset C; Piwnica A; and Cozzone P (1985) Influence of the pH of cardioplegic solutions on intracellular pH, high-energy phosphates, and postarrest performance. Protective effects of acidotic, glutamate-containing cardioplegic perfusates. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 90(2): 235-42
19. Bhabra MS; Hopkinson DN; Shaw TE; and Hooper TL (1996) Critical importance of the first 10 minutes of lung graft reperfusion after hypothermic storage. *Ann Thorac Surg*, 61(6): 1631-5
20. Bhabra MS; Hopkinson DN; Shaw TE; and Hooper TL (1997a) Low-dose nitric oxide inhalation during initial reperfusion enhances rat lung graft function. *Ann Thorac Surg*, 63(2): 339-44
21. Bhabra MS; Hopkinson DN; Shaw TE; and Hooper TL (1997b) Attenuation of lung graft reperfusion injury by a nitric oxide donor. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 113(2): 327-33; discussion 333-4
22. Bhat GB, and Block ER (1992) Effect of hypoxia on phospholipid metabolism in porcine pulmonary artery endothelial cells. *Am J Physiol*, 262(5 Pt 1): L606-13
23. Bhat GB; Tinsley SB; Tolson JK; Patel JM; and Block ER (1992) Hypoxia increases the susceptibility of pulmonary artery endothelial cells to hydrogen peroxide injury. *J Cell Physiol*, 151(2): 228-38

24. Bitu-Moreno J; Francischetti I; Siemer R; Matheis G; Baretti R; Maffei FH; Kreitmayer B; and Beyersdorf F (1999) Influence of different routes of flush perfusion on the distribution of lung preservation solutions in parenchyma and airways. *Eur J Cardiothorac Surg*, 15(4): 481-9
25. Blumberg FC; Wolf K; Sandner P; Lorenz C; Riegger GA; and Pfeifer M (2001) The NO donor molsidomine reduces endothelin-1 gene expression in chronic hypoxic rat lungs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 280(2): L258-63
26. Borgers M; Thone F; Van Reempts J; and Verheyen F (1983) The role of calcium in cellular dysfunction. *Am J Emerg Med*, 1(2): 154-61
27. Brandes H; Albes JM; Conzelmann A; Wehrmann M; and Ziemer G (2002) Comparison of pulsatile and nonpulsatile perfusion of the lung in an extracorporeal large animal model. *Eur Surg Res*, 34(4): 321-9
28. Bresticker MA; LoCicero J, 3rd; Oba J; and Greene R (1992) Successful extended lung preservation with UW solution. *Transplantation*, 54(5): 780-4
29. Brugiere O; Pessione F; Thabut G; Mal H; Jebrak G; Leseche G; and Fournier M (2002) Bronchiolitis obliterans syndrome after single-lung transplantation: impact of time to onset on functional pattern and survival. *Chest*, 121(6): 1883-9
30. Cardella JA; Keshavjee S; Mourgeon E; Cassivi SD; Fischer S; Isowa N; Slutsky A; and Liu M (2000) A novel cell culture model for studying ischemia-reperfusion injury in lung transplantation. *J Appl Physiol*, 89(4): 1553-60
31. Chang M; Shi M; and Forman HJ (1992) Exogenous glutathione protects endothelial cells from menadione toxicity. *Am J Physiol*, 262(5 Pt 1): L637-43
32. Chen CZ; Gallagher RC; Ardery P; Dyckman W; and Low HB (1996) Retrograde versus antegrade flush in canine left lung preservation for six hours. *J Heart Lung Transplant*, 15(4): 395-403
33. Chen CZ; Gallagher RC; Ardery P; Dyckman W; Donabue S; and Low HB (1997) Retrograde flush and cold storage for twenty-two to twenty-five hours lung preservation with and without prostaglandin E1. *J Heart Lung Transplant*, 16(6): 658-66
34. Chiang CH (2001) Comparison of effectiveness of intracellular and extracellular preservation solution on attenuation in ischemic-reperfusion lung injury in rats. *J Formos Med Assoc*, 100(4): 233-9
35. Chiang CH; Wu K; Yu CP; Yan HC; Perng WC; and Wu CP (1999) Hypothermia and prostaglandin E(1) produce synergistic attenuation of ischemia-reperfusion lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 160(4): 1319-23

36. Chiang CH; Wu K; Yu CP; Perng WC; Yan HC; Wu CP; Chang DM; and Hsu K (1998) Protective agents used as additives in University of Wisconsin solution to promote protection against ischaemia-reperfusion injury in rat lung. *Clin Sci (Lond)*, 95(3): 369-76
37. Chien S; Zhang F; Niu W; Tseng MT; and Gray L, Jr. (2000) Comparison of university of wisconsin, euro-collins, low-potassium dextran, and krebs-henseleit solutions for hypothermic lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 119(5): 921-30
38. Chinet T (2002) At the heart of pulmonary oedema. *J Physiol*, 544(Pt 2): 335
39. Christie NA; Smith DE; Decampos KN; Slutsky AS; Patterson GA; and Tanswell AK (1994) Lung oxidant injury in a model of lung storage and extended reperfusion. *Am J Respir Crit Care Med*, 150(4): 1032-7
40. Clark SC; Sudarshan C; Roughan J; Flecknell PA; and Dark JH (1999) Modulation of reperfusion injury after single lung transplantation by pentoxifylline, inositol polyanions, and sin-1. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 117(3): 556-64
41. Cohen RG, and Starnes VA (2001) Living donor lung transplantation. *World J Surg*, 25(2): 244-50
42. Collins GM, and Wicomb WN (1992) New organ preservation solutions. *Kidney Int Suppl*, 38: S197-202
43. Collins GM; Bravo-Shugarman M; and Terasaki PI (1969) Kidney preservation for transportation. Initial perfusion and 30 hours' ice storage. *Lancet*, 2(7632): 1219-22
44. Cooper JD; Pearson FG; Patterson GA; Todd TR; Ginsberg RJ; Goldberg M; and DeMajo WA (1987) Technique of successful lung transplantation in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 93(2): 173-81
45. Cooper JD; Billingham M; Egan T; Hertz MI; Higenbottam T; Lynch J; Mauer J; Paradis I; Patterson GA; Smith C; and et al. (1993) A working formulation for the standardization of nomenclature and for clinical staging of chronic dysfunction in lung allografts. International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 12(5): 713-6
46. Crandall ED, and Matthay MA (2001) Alveolar epithelial transport. Basic science to clinical medicine. *Am J Respir Crit Care Med*, 163(4): 1021-9
47. Date H; Matsumura A; Manchester JK; Obo H; Lima O; Cooper JM; Sundaresan S; Lowry OH; and Cooper JD (1993) Evaluation of lung metabolism during successful twenty-four-hour canine lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 105(3): 480-91
48. de Perrot M, and Keshavjee S (2001) Lung preservation. *Organ Transplant*, 6(3): 223-230

49. de Perrot M; Liu M; Waddell TK; and Keshavjee S (2003) Ischemia-Reperfusion-induced Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 167(4): 490-511
50. de Perrot M; Fischer S; Liu M; Jin R; Bai XH; Waddell TK; and Keshavjee S (2001) Prostaglandin E1 protects lung transplants from ischemia-reperfusion injury: a shift from pro- to anti-inflammatory cytokines. *Transplantation*, 72(9): 1505-12
51. DeCampos KN; Keshavjee S; Liu M; and Slutsky AS (1998) Optimal inflation volume for hypothermic preservation of rat lungs. *J Heart Lung Transplant*, 17(6): 599-607
52. DeCampos KN; Waddell TK; Slutsky AS; Post M; and Patterson GA (1993) Assessment of postpreservation rat lung function using a new model for extended venous reperfusion. *J Appl Physiol*, 75(4): 1890-6
53. DeMeo DL, and Ginns LC (2001) Clinical status of lung transplantation. *Transplantation*, 72(11): 1713-24
54. Demikhov VP: Experimental transplantation of vital organs. Authorized translation from the Russian by Basil Haigh. Edited, Consultants Bureau, New York, 1962.
55. Derom F; Barbier F; Ringoir S; Versieck J; Rolly G; Berzsenyi G; Vermeire P; and Vrints L (1971) Ten-month survival after lung homotransplantation in man. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 61(6): 835-46
56. Duncan AJ; Dummer JS; Paradis IL; Dauber JH; Yousem SA; Zenati MA; Kormos RL; and Griffith BP (1991) Cytomegalovirus infection and survival in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*, 10(5 Pt 1): 638-44; discussion 645-6
57. Egan TM; Boychuk JE; Rosato K; and Cooper JD (1992) Whence the lungs? A study to assess suitability of donor lungs for transplantation. *Transplantation*, 53(2): 420-2
58. Eppinger MJ; Deeb GM; Bolling SF; and Ward PA (1997) Mediators of ischemia-reperfusion injury of rat lung. *Am J Pathol*, 150(5): 1773-84
59. Eppinger MJ; Ward PA; Jones ML; Bolling SF; and Deeb GM (1995) Disparate effects of nitric oxide on lung ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*, 60(5): 1169-75; discussion 1176
60. Ferreira R; Burgos M; Llesuy S; Molteni L; Milei J; Flecha BG; and Boveris A (1989) Reduction of reperfusion injury with mannitol cardioplegia. *Ann Thorac Surg*, 48(1): 77-83; discussion 83-4
61. Fischer S; Struber M; und Haverich A (2002) [Current status of lung transplantation: patients, indications, techniques and outcome]. *Med Klin*, 97(3): 137-43

62. Fischer S; Hopkinson D; Liu M; and Keshavjee S (2000a) Raffinose improves the function of rat pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 119(3): 488-92
63. Fischer S; Maclean AA; Liu M; Kalirai B; and Keshavjee S (2000b) Inhibition of angiotensin-converting enzyme by captopril: a novel approach to reduce ischemia-reperfusion injury after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 120(3): 573-80
64. Fischer S; Hopkinson D; Liu M; MacLean AA; Edwards V; Cutz E; and Keshavjee S (2001) Raffinose improves 24-hour lung preservation in low potassium dextran glucose solution: a histologic and ultrastructural analysis. *Ann Thorac Surg*, 71(4): 1140-5
65. Fiser SM; Kron IL; Long SM; Kaza AK; Kern JA; Cassada DC; Laubach VE; and Tribble CG (2002) Controlled perfusion decreases reperfusion injury after high-flow reperfusion. *J Heart Lung Transplant*, 21(6): 687-91
66. Franke U; Wiebe K; Harringer W; Franke T; Wittwer T; Wahlers T; and Haverich A (2000) Ten years experience with lung and heart-lung transplantation in primary and secondary pulmonary hypertension. *Eur J Cardiothorac Surg*, 18(4): 447-52
67. Fujimura S; Handa M; Kondo T; Ichinose T; Shiraishi Y; and Nakada T (1987) Successful 48-hour simple hypothermic preservation of canine lung transplants. *Transplant Proc*, 19(1 Pt 2): 1334-6
68. Fukuse T; Albes JM; Takahashi Y; Brandes H; Hausen B; and Schafers HJ (1995) Influence of red blood cells on lung function in an ex vivo rat heart-lung model. *J Surg Res*, 59(3): 399-404
69. Fukuse T; Albes JM; Brandes H; Takahashi Y; Demertzis S; and Schafers HJ (1996a) Comparison of low potassium Euro-Collins solution and standard Euro-Collins solution in an extracorporeal rat heart-lung model. *Eur J Cardiothorac Surg*, 10(8): 621-7
70. Fukuse T; Albes JM; Wilhelm A; Bando T; Fischer F; Hausen B; Rohde R; Wahlers T; and Schafers HJ (1996b) Influence of dextrans on lung preservation: is the molecular weight important? *J Heart Lung Transplant*, 15(9): 903-10
71. Fullerton DA; Mitchell MB; McIntyre RC, Jr.; Banerjee A; Campbell DN; Harken AH; and Grover FL (1993) Cold ischemia and reperfusion each produce pulmonary vasomotor dysfunction in the transplanted lung. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 106(6): 1213-7
72. Gao WS; Hijioka T; Lindert KA; Caldwell-Kenkel JC; Lemasters JJ; and Thurman RG (1991) Evidence that adenosine is a key component in Carolina rinse responsible for reducing graft failure after orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation*, 52(6): 992-8

73. Grover FL; Fullerton DA; Zamora MR; Mills C; Ackerman B; Badesch D; Brown JM; Campbell DN; Chetham P; Dhaliwal A; Diercks M; Kinnard T; Niejadlik K; and Ochs M (1997) The past, present, and future of lung transplantation. *Am J Surg*, 173(6): 523-33
74. Hajjar G; Toledo-Pereyra LH; and Mackenzie GH (1986) Effect of 24-hour preservation with oxygen free radical scavengers on isolated-perfused canine heart-lungs. *P R Health Sci J*, 5(1): 19-25
75. Hall TS; Borkon AM; Gurtner GC; Brawn J; Hutchins GM; Reitz BA; and Baumgartner WA (1988) Improved static lung preservation with corticosteroids and hypothermia. *J Heart Transplant*, 7(5): 348-52
76. Halldorsson AO; Kronon MT; Allen BS; Rahman S; and Wang T (2000) Lowering reperfusion pressure reduces the injury after pulmonary ischemia. *Ann Thorac Surg*, 69(1): 198-203; discussion 204
77. Hampl V, and Herget J (2000) Role of nitric oxide in the pathogenesis of chronic pulmonary hypertension. *Physiol Rev*, 80(4): 1337-72
78. Haniuda M; Hasegawa S; Shiraishi T; Dresler CM; Cooper JD; and Patterson GA (1996) Effects of inflation volume during lung preservation on pulmonary capillary permeability. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 112(1): 85-93
79. Hardesty RL; Aebe R; Armitage JM; Kormos RL; and Griffith BP (1993) A clinical trial of University of Wisconsin solution for pulmonary preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 105(4): 660-6
80. Hardy JD (1999) The first lung transplant in man (1963) and the first heart transplant in man (1964). *Transplant Proc*, 31(1-2): 25-9
81. Harjula AL; Starkey TD; Hagberg RC; and Baldwin JC (1987) Intravenous prostaglandin E1, cold crystalloid flush and topical hypothermia for cardiopulmonary graft preservation. *Ann Chir Gynaecol*, 76(1): 56-60
82. Hausen B; Ramsamooj R; Hewitt CW; Schroder F; Beuke M; Poets CF; and Schafers HJ (1996) The importance of static lung inflation during organ storage: the impact of varying ischemic intervals in a double lung rat transplantation model. *Transplantation*, 62(12): 1720-5
83. Haverich A; Scott WC; and Jamieson SW (1985) Twenty years of lung preservation--a review. *J Heart Transplant*, 4(2): 234-40
84. Hertz M; Taylor D; Trulock E; Boucek M; Mohacsi P; Edwards L; and Keck B (2002) The registry of the international society for heart and lung transplantation: nineteenth official report-2002. *J Heart Lung Transplant*, 21(9): 950
85. Hiramatsu Y; Muraoka R; Chiba Y; and Sasaki M (1994) Influence of pH of preservation solution on lung viability. *Ann Thorac Surg*, 58(4): 1083-6

86. Hirata T; Fukuse T; Ueda Y; Liu CJ; Hitomi S; and Wada H (1996) Effect of new ET-Kyoto solution on 17-hour lung preservation in isolated rat lungs. *Transplant Proc*, 28(3): 1922-3
87. Hirata T; Fukuse T; Nakamura T; Ueda M; Kawashima M; Hitomi S; and Wada H (2000) Reperfusion lung injury after cold preservation correlates with decreased levels of intrapulmonary high-energy phosphates. *Transplantation*, 69(9): 1793-801
88. Hirata T; Fukuse T; Liu CJ; Muro K; Yokomise H; Yagi K; Inui K; Hitomi S; and Wada H (1994) Effects of trehalose in canine lung preservation. *Surgery*, 115(1): 102-7
89. Hirt SW; Wahlers T; Jurmann M; Fieguth HG; Dammenhayn L; and Haverich A (1992) Improvement of currently used methods for lung preservation with prostacyclin and University of Wisconsin solution. *J Heart Lung Transplant*, 11(4 Pt 1): 656-64
90. Hoffman B; Sollinger H; Kalayoglu M; and Belzer FO (1988) Use of UW solution for kidney transplantation. *Transplantation*, 46(2): 338-9
91. Hoffmann SC; Bleiweis MS; Jones DR; Paik HC; Ciriaco P; and Egan TM (2001) Maintenance of cAMP in non-heart-beating donor lungs reduces ischemia-reperfusion injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 163(7): 1642-7
92. Homatas J; Bryant L; and Eiseman B (1968) Time limits of cadaver lung viability. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 56(1): 132-40
93. Hopkinson DN; Bhabra MS; and Hooper TL (1998) Pulmonary graft preservation: a worldwide survey of current clinical practice. *J Heart Lung Transplant*, 17(5): 525-31
94. Ingemansson R; Massa G; Pandita RK; Sjoberg T; and Steen S (1995) Perfadex is superior to Euro-Collins solution regarding 24-hour preservation of vascular function. *Ann Thorac Surg*, 60(5): 1210-4
95. Iwazaki S; Takeyoshi II; Ohwada S; Sunose Y; Aiba M; Tsutsumi H; Kawashima Y; Matsumoto K; and Morishita Y (2001) FR128998 (a PAF Receptor Antagonist) Counters the Increased Pulmonary Vascular Resistance Associated with Ischemia-Reperfusion Injury in the Canine Lung. *Int. J. Angiol.* 10(1): 10-14
96. Jahr J, and Grande PO (1997) Peripheral circulatory effects of pump perfusion on cat skeletal muscle with and without prostacyclin. *Acta Physiol Scand*, 159(2): 93-100
97. Jurmann MJ; Dammenhayn L; Schafers HJ; Wahlers T; Fieguth HG; and Haverich A (1987) Prostacyclin as an additive to single crystalloid flush: improved pulmonary preservation in heart-lung transplantation. *Transplant Proc*, 19(5): 4103-4

98. Kalayoglu M; Sollinger HW; Stratta RJ; D'Alessandro AM; Hoffmann RM; Pirsch JD; and Belzer FO (1988) Extended preservation of the liver for clinical transplantation. *Lancet*, 1(8586): 617-9
99. Kamoshita N; Takeyoshi I; Ohwada S; Iino Y; and Morishita Y (1997) The effects of FR167653 on pulmonary ischemia-reperfusion injury in dogs. *J Heart Lung Transplant*, 16(10): 1062-72
100. Karamsetty MR, and Klinger JR (2002) NO: more than just a vasodilator in lung transplantation. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 26(1): 1-5
101. Kawahara K; Ikari H; Hisano H; Takahashi T; Honshou S; Ayabe H; and Tomita M (1991) Twenty-four-hour canine lung preservation using UW solution. *Transplantation*, 51(3): 584-7
102. Kayano K; Toda K; Naka Y; Okada K; Oz MC; and Pinsky DJ (1999) Superior protection in orthotopic rat lung transplantation with cyclic adenosine monophosphate and nitroglycerin-containing preservation solution. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 118(1): 135-44
103. Keenan RJ; Lega ME; Dummer JS; Paradis IL; Dauber JH; Rabinowich H; Yousem SA; Hardesty RL; Griffith BP; Duquesnoy RJ; and et al. (1991) Cytomegalovirus serologic status and postoperative infection correlated with risk of developing chronic rejection after pulmonary transplantation. *Transplantation*, 51(2): 433-8
104. Kelly FJ (1999) Glutathione: in defence of the lung. *Food Chem Toxicol*, 37(9-10): 963-6
105. Kelly RF (2000) Current strategies in lung preservation. *J Lab Clin Med*, 136(6): 427-40
106. Keshavjee SH; Yamazaki F; Cardoso PF; McRitchie DI; Patterson GA; and Cooper JD (1989) A method for safe twelve-hour pulmonary preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 98(4): 529-34
107. Kim JD; Baker CJ; Danto SI; Starnes VA; and Barr ML (2000) Modulation of pulmonary NA⁺ pump gene expression during cold storage and reperfusion. *Transplantation*, 70(7): 1016-20
108. Kimblad PO; Sjoberg T; and Steen S (1994) Pulmonary vascular resistance related to endothelial function after lung transplantation. *Ann Thorac Surg*, 58(2): 416-20
109. Kimblad PO; Sjoberg T; Massa G; Solem JO; and Steen S (1991) High potassium contents in organ preservation solutions cause strong pulmonary vasocontraction. *Ann Thorac Surg*, 52(3): 523-8
110. Kirk AJ; Colquhoun IW; and Dark JH (1993) Lung preservation: a review of current practice and future directions. *Ann Thorac Surg*, 56(4): 990-100

111. Kukreja RC; Kearns AA; Zweier JL; Kuppusamy P; and Hess ML (1991) Singlet oxygen interaction with Ca(2+)-ATPase of cardiac sarcoplasmic reticulum. *Circ Res*, 69(4): 1003-14
112. Laffey JG; Engelberts D; and Kavanagh BP (2000a) Buffering hypercapnic acidosis worsens acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 161(1): 141-6
113. Laffey JG; Tanaka M; Engelberts D; Luo X; Yuan S; Tanswell AK; Post M; Lindsay T; and Kavanagh BP (2000b) Therapeutic hypercapnia reduces pulmonary and systemic injury following in vivo lung reperfusion. *Am J Respir Crit Care Med*, 162(6): 2287-94
114. Lambert CJ, Jr., and Egan TM (1992) Optimal timing of administration of a free radical scavenger in lung preservation. *Transplantation*, 54(2): 205-9
115. Levine AJ; Parkes K; Rooney S; and Bonser RS (2000) Reduction of endothelial injury after hypothermic lung preservation by initial leukocyte-depleted reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 120(1): 47-54
116. Liu CJ; Kosaka S; Ueda M; Hirata T; Fukuse T; Yokomise H; Inui K; Hitomi S; and Wada H (1996) New ET-Kyoto solution containing N-acetylcysteine, nitroglycerin, and dibutyl cyclic AMP provides reliable 30-hour canine lung preservation. *Transplant Proc*, 28(3): 1871-3
117. Löffler G, Petrides, P.: Biochemie und Pathobiochemie, 5. Auflage. Edited, Berlin-Heidelberg, Deutschland, Springer-Verlag, (1997) S.100-103.
118. Lu D; Maulik N; Moraru, II; Kreutzer DL; and Das DK (1993) Molecular adaptation of vascular endothelial cells to oxidative stress. *Am J Physiol*, 264(3 Pt 1): C715-22
119. Marshall VC; Jablonski P; Biguzas M; Howden BO; and Walls K (1991) University of Wisconsin solution for kidney preservation: the impermeant components. *Transplant Proc*, 23(1 Pt 1): 651-2
120. Maruyama T; Swartz MT; McBride LR; and Pennington DG (1994) Working heart model of heterotopic heart-lung transplantation in rats. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 107(1): 210-5
121. Menasche P; Termignon JL; Pradier F; Grousset C; Mouas C; Alberici G; Weiss M; Piwnica A; and Bloch G (1994) Experimental evaluation of Celsior, a new heart preservation solution. *Eur J Cardiothorac Surg*, 8(4): 207-13
122. Metras H (1950) Note prelimiaire sur la geffe totale du poumon chez le chien. *C R Acad Sci (Paris)*, 231: 1176-1177
123. Moore TM; Khimenko P; Adkins WK; Miyasaka M; and Taylor AE (1995) Adhesion molecules contribute to ischemia and reperfusion-induced injury in the isolated rat lung. *J Appl Physiol*, 78(6): 2245-52

124. Muller C; Furst H; Reichenspurner H; Briegel J; Groh J; and Reichart B (1999) Lung procurement by low-potassium dextran and the effect on preservation injury. Munich Lung Transplant Group. *Transplantation*, 68(8): 1139-43
125. Murakami S; Bacha EA; Mazmanian GM; Detruit H; Chapelier A; Darteville P; and Herve P (1997) Effects of various timings and concentrations of inhaled nitric oxide in lung ischemia-reperfusion. The Paris-Sud University Lung Transplantation Group. *Am J Respir Crit Care Med*, 156(2 Pt 1): 454-8
126. Naka Y; Shirakura R; Matsuda H; Nakata S; Fukushima N; Nakano S; and Kawashima Y (1991) Canine heart-lung transplantation after twenty-four-hour hypothermic preservation with Belzer-UW solution. *J Heart Lung Transplant*, 10(2): 296-302; discussion 303
127. Nakamoto K; Maeda M; Taniguchi K; Tsubota N; and Kawashima Y (1992) A study on optimal temperature for isolated lung preservation. *Ann Thorac Surg*, 53(1): 101-8
128. Nezu K; Kushibe K; Tojo T; Sawabata N; Kawachi K; Mizumoto Y; Nakae D; Konishi Y; and Kitamura S (1994) Protection against lipid peroxidation induced during preservation of lungs for transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 13(6): 998-1002
129. Novick RJ; Menkis AH; and McKenzie FN (1992) New trends in lung preservation: a collective review. *J Heart Lung Transplant*, 11(2 Pt 1): 377-92
130. Obo H, and Yamashita C (1990) [The effect of PGI₂ analogue on the warm ischemic changes in canine lung]. *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi*, 38(1): 57-65
131. Ogawa S; Gerlach H; Esposito C; Pasagian-Macaulay A; Brett J; and Stern D (1990) Hypoxia modulates the barrier and coagulant function of cultured bovine endothelium. Increased monolayer permeability and induction of procoagulant properties. *J Clin Invest*, 85(4): 1090-8
132. Ogawa S; Koga S; Kuwabara K; Brett J; Morrow B; Morris SA; Bilezikian JP; Silverstein SC; and Stern D (1992) Hypoxia-induced increased permeability of endothelial monolayers occurs through lowering of cellular cAMP levels. *Am J Physiol*, 262(3 Pt 1): C546-54
133. Omote Y; Ikeda K; Yamazaki K; and Kubo Y (1994) The superiority of UW solution for maintaining ATP concentrations during pulmonary preservation. *Surg Today*, 24(7): 616-20
134. Pinsky DJ (1995) The vascular biology of heart and lung preservation for transplantation. *Thromb Haemost*, 74(1): 58-65
135. Pinsky DJ; Naka Y; Chowdhury NC; Liao H; Oz MC; Michler RE; Kubaszewski E; Malinski T; and Stern DM (1994) The nitric oxide/cyclic GMP pathway in organ transplantation: critical role in successful lung preservation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91(25): 12086-90

136. Platt J; DiSesa V; Gail D; and Massicot-Fisher J (2002) Recommendations of the National Heart, Lung, and Blood Institute Heart and Lung Xenotransplantation Working Group. *Circulation*, 106(9): 1043-7
137. Ploeg RJ; Goossens D; Sollinger HW; Southard JH; and Belzer FO (1988) Efficacy of 48-hour pancreas preservation with UW solution in the dog allograft model. *Transplant Proc*, 20(5): 1026-8
138. Puskas JD; Cardoso PF; Mayer E; Shi S; Slutsky AS; and Patterson GA (1992) Equivalent eighteen-hour lung preservation with low-potassium dextran or Euro-Collins solution after prostaglandin E1 infusion. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 104(1): 83-9
139. Rahn H; Reeves RB; and Howell BJ (1975) Hydrogen ion regulation, temperature, and evolution. *Am Rev Respir Dis*, 112(2): 165-72
140. Reignier J; Mazmanian M; Chapelier A; Alberici G; Menasche P; Weiss M; and Herve P (1995) Evaluation of a new preservation solution: Celsior in the isolated rat lung. Paris-Sud University Lung Transplantation Group. *J Heart Lung Transplant*, 14(3): 601-4
141. Roberts RF; Nishanian GP; Carey JN; Sakamaki Y; Starnes VA; and Barr ML (1999) A comparison of the new preservation solution Celsior to Euro-Collins and University of Wisconsin solutions in lung reperfusion injury. *Transplantation*, 67(1): 152-5
142. Rodman DM; Yamaguchi T; Hasunuma K; O'Brien RF; and McMurtry IF (1990) Effects of hypoxia on endothelium-dependent relaxation of rat pulmonary artery. *Am J Physiol*, 258(4 Pt 1): L207-14
143. Sakamaki F; Hoffmann H; Muller C; Dienemann H; Messmer K; and Schildberg FW (1997) Reduced lipid peroxidation and ischemia-reperfusion injury after lung transplantation using low-potassium dextran solution for lung preservation. *Am J Respir Crit Care Med*, 156(4 Pt 1): 1073-81
144. Sarsam MA; Yonan NA; Deiraniya AK; and Rahman AN (1993) Retrograde pulmonary plegia for lung preservation in clinical transplantation: a new technique. *J Heart Lung Transplant*, 12(3): 494-8
145. Sasaki M; Muraoka R; Chiba Y; and Hiramatsu Y (1996a) Influence of pulmonary arterial pressure during flushing on lung preservation. *Transplantation*, 61(1): 22-7
146. Sasaki S; Alessandrini F; Lodi R; McCully J; and LoCicero J, 3rd (1996b) Improvement of pulmonary graft after storage for twenty-four hours by in vivo administration of lazaroid U74389G: functional and morphologic analysis. *J Heart Lung Transplant*, 15(1 Pt 1): 35-42
147. Sasaki S; McCully JD; Alessandrini F; and LoCicero J, 3rd (1995) Impact of initial flush potassium concentration on the adequacy of lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 109(6): 1090-5; discussion 1095-6

148. Schmidt R, Thews, G.: Physiologie des Menschen, 27. Auflage. Edited, Berlin-Heidelberg, Deutschland, Springer Verlag, (1997) S.20-40.
149. Schulman LL; Weinberg AD; McGregor C; Galantowicz ME; Suciu-Foca NM; and Itescu S (1998) Mismatches at the HLA-DR and HLA-B loci are risk factors for acute rejection after lung transplantation.
Am J Respir Crit Care Med, 157(6 Pt 1): 1833-7
150. Shibata K; Cregg N; Engelberts D; Takeuchi A; Fedorko L; and Kavanagh BP (1998) Hypercapnic acidosis may attenuate acute lung injury by inhibition of endogenous xanthine oxidase.
Am J Respir Crit Care Med, 158(5 Pt 1): 1578-84
151. Shiraishi T; Igisu H; and Shirakusa T (1994) Effects of pH and temperature on lung preservation: a study with an isolated rat lung reperfusion model.
Ann Thorac Surg, 57(3): 639-43
152. Smyth RL; Scott JP; Borysiewicz LK; Sharples LD; Stewart S; Wreghitt TG; Gray JJ; Higenbottam TW; and Wallwork J (1991) Cytomegalovirus infection in heart-lung transplant recipients: risk factors, clinical associations, and response to treatment. *J Infect Dis*, 164(6): 1045-50
153. Southard JH; van Gulik TM; Ametani MS; Vreugdenhil PK; Lindell SL; Pienaar BL; and Belzer FO (1990) Important components of the UW solution.
Transplantation, 49(2): 251-7
154. Spaggiari L, and Bobbio P (1994) Dextran 40 at 2% versus 5% in low-potassium solutions: which is best? *Ann Thorac Surg*, 58(6): 1784-6
155. Spaggiari L; Rusca M; Alfieri R; Carbognani P; Urbani S; Petronini P; Dell'Abate P; Bobbio A; Piccolo P; Rossini E; and et al. (1994) Verapamil used in lung transplantation: could it have a cytoprotective effect during the ischemic phase of pulmonary preservation? Study on alveolar type II cells.
Acta Biomed Ateneo Parmense, 65(1-2): 35-41
156. Spaggiari L; Carbognani P; Rusca M; Alfieri R; Solli P; Cattelani L; Urbani S; Petronini P; Borghetti AF; and Bobbio P (1995) Methodology for the assessment of lung protection. Human pulmonary artery endothelial cell preservation using haemaccel. *Transplantation*, 60(9): 1040-3
157. Stammberger U; Hamacher J; Hillinger S; and Schmid RA (2000) sCR1sLe ameliorates ischemia/reperfusion injury in experimental lung transplantation.
J Thorac Cardiovasc Surg, 120(6): 1078-84
158. Stammberger U; Hamacher J; Pache JC; and Schmid RA (2002) sCR1sLe(X) reduces lung allograft ischemia-reperfusion injury but does not ameliorate acute rejection. *Eur J Cardiothorac Surg*, 22(3): 368-72

159. Stammberger U; Carboni GL; Hillinger S; Schneiter D; Weder W; and Schmid RA (1999) Combined treatment with endothelin- and PAF-antagonists reduces posttransplant lung ischemia/reperfusion injury. *J Heart Lung Transplant*, 18(9): 862-8
160. Starkey TD; Sakakibara N; Hagberg RC; Tazelaar HD; Baldwin JC; and Jamieson SW (1986) Successful six-hour cardiopulmonary preservation with simple hypothermic crystalloid flush. *J Heart Transplant*, 5(4): 291-7
161. Starnes VA; Woo MS; MacLaughlin EF; Horn MV; Wong PC; Rowland JM; Durst CL; Wells WJ; and Barr ML (1999) Comparison of outcomes between living donor and cadaveric lung transplantation in children. *Ann Thorac Surg*, 68(6): 2279-83; discussion 2283-4
162. Staudacher V; Bellinazzo P; and Pulin A (1950) Primi rilievi su tentativi di reimpianti autoplastici e di trapianti omoplastici di lobi pulmonari. *Chirurgia (Milano)*, 5: 227-233
163. Steen S; Kimblad PO; Sjöberg T; Lindberg L; Ingemansson R; and Massa G (1994) Safe lung preservation for twenty-four hours with Perfadex. *Ann Thorac Surg*, 57(2): 450-7
164. Steen S; Sjöberg T; Pierre L; Liao Q; Eriksson L; and Algotsson L (2001) Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor. *Lancet*, 357(9259): 825-9
165. Stewart KC, and Patterson GA (2001) Current trends in lung transplantation. *Am J Transplant*, 1(3): 204-10
166. Strüber M; Hirt SW; Cremer J; Harringer W; and Haverich A (1999) Surfactant replacement in reperfusion injury after clinical lung transplantation. *Intensive Care Med*, 25(8): 862-4
167. Strüber M; Hohlfield JM; Kofidis T; Warnecke G; Niedermeyer J; Sommer SP; and Haverich A (2002) Surfactant function in lung transplantation after 24 hours of ischemia: advantage of retrograde flush perfusion for preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 123(1): 98-103
168. Suzuki S; Sugita M; Ono S; Song C; Kondo T; and Fujimura S (2000a) Difference in the effects of low temperatures on the tension of human pulmonary artery and vein ring segments. *Respiration*, 67(2): 189-93
169. Suzuki S; Inoue K; Sugita M; Tsubochi H; Kondo T; and Fujimura S (2000b) Effects of EP4 solution and LPD solution vs Euro-Collins solution on Na(+)/K(+)-ATPase activity in rat alveolar type II cells and human alveolar epithelial cell line A549 cells. *J Heart Lung Transplant*, 19(9): 887-93
170. Swanson DK; Pasaoglu I; Berkoff HA; Southard JA; and Hegge JO (1988) Improved heart preservation with UW preservation solution. *J Heart Transplant*, 7(6): 456-67

171. Takeyoshi I; Otani Y; Yoshinari D; Kawashima Y; Ohwada S; Matsumoto K; and Morishita Y (2000) Beneficial effects of novel nitric oxide donor (FK409) on pulmonary ischemia-reperfusion injury in rats. *J Heart Lung Transplant*, 19(2): 185-92
172. Tanaka H; Chiba Y; Sasaki M; Matsukawa S; and Muraoka R (1998) Relationship between flushing pressure and nitric oxide production in preserved lungs. *Transplantation*, 65(4): 460-4
173. Tateson JE; Moncada S; and Vane JR (1977) Effects of prostacyclin (PGX) on cyclic AMP concentrations in human platelets. *Prostaglandins*, 13(3): 389-97
174. Thabut G; Vinatier I; Stern JB; Leseche G; Loirat P; Fournier M; and Mal H (2002) Primary graft failure following lung transplantation: predictive factors of mortality. *Chest*, 121(6): 1876-82
175. Thabut G; Vinatier I; Brugiere O; Leseche G; Loirat P; Bisson A; Marty J; Fournier M; and Mal H (2001) Influence of preservation solution on early graft failure in clinical lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 164(7): 1204-8
176. Toronto Lung Transplant Group (1986) Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*, 314(18): 1140-5
177. Urushihara T; Sumimoto R; Sumimoto K; Jamieson NV; Ito H; Ikeda M; Fukuda Y; and Dohi K (1992) A comparison of some simplified lactobionate preservation solutions with standard UW solution and Eurocollins solution for pancreas preservation. *Transplantation*, 53(4): 750-4
178. van den Berg JW; Hepkema BG; Geertsma A; Koeter GH; Postma DS; de Boer WJ; Lems SP; and van der Bij W (2001) Long-term outcome of lung transplantation is predicted by the number of HLA-DR mismatches. *Transplantation*, 71(3): 368-73
179. Vane JR; Anggard EE; and Botting RM (1990) Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med*, 323(1): 27-36
180. Vanrenterghem Y (2000) Cautious approach to use of non-heart-beating donors. *Lancet*, 356(9229): 528
181. Varela A; Cordoba M; Serrano-Fiz S; Burgos R; Montero CG; Tellez G; Novoa N; Castedo E; Tebar E; Tellez J; Roda J; and Ugarte J (1997) Early lung allograft function after retrograde and antegrade preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 114(6): 1119-20
182. Veith FJ; Sinha SB; Graves JS; Boley SJ; and Dougherty JC (1971) Ischemic tolerance of the lung. The effect of ventilation and inflation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 61(5): 804-10

183. Venuta F; Rendina EA; Bufi M; Della Rocca G; De Giacomo T; Costa MG; Pugliese F; Coccia C; Ciccone AM; and Coloni GF (1999) Preimplantation retrograde pneumoplegia in clinical lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 118(1): 107-14
184. Vinnikova AK; Kukreja RC; and Hess ML (1992) Singlet oxygen-induced inhibition of cardiac sarcolemmal Na⁺K⁺-ATPase. *J Mol Cell Cardiol*, 24(5): 465-70
185. Wahlers T; Schafers HJ; Cremer J; Jurman M; Hirt SW; Fieguth HG; and Haverich A (1991) Organ preservation for heart-lung and lung transplantation. *Thorac Cardiovasc Surg*, 39(6): 344-8
186. Wang G; Reader J; Hynd J; and Pepper J (1990) Improved heart and lung preservation in a rat model. *Transpl Int*, 3(4): 206-11
187. Wang LS; Nakamoto K; Hsieh CM; Miyoshi S; and Cooper JD (1993) Influence of temperature of flushing solution on lung preservation. *Ann Thorac Surg*, 55(3): 711-5
188. Wang LS; Yoshikawa K; Miyoshi S; Nakamoto K; Hsieh CM; Yamazaki F; Guerreiro Cardoso PF; Schafers HJ; Brito J; Keshavjee SH; and et al. (1989) The effect of ischemic time and temperature on lung preservation in a simple ex vivo rabbit model used for functional assessment. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 98(3): 333-42
189. Weder W; Harper B; Shimokawa S; Miyoshi S; Date H; Schreinemakers H; Egan T; and Cooper JD (1991) Influence of intraalveolar oxygen concentration on lung preservation in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 101(6): 1037-43
190. Wittwer T; Wahlers T; Cornelius JF; Elki S; and Haverich A (1999a) Celsior solution for improvement of currently used clinical standards of lung preservation in an ex vivo rat model. *Eur J Cardiothorac Surg*, 15(5): 667-71
191. Wittwer T; Wahlers T; Fehrenbach A; Cornelius JF; Elki S; Ochs M; Fehrenbach H; Albes J; Haverich A; and Richter J (1999b) Combined use of prostacyclin and higher perfusate temperatures further enhances the superior lung preservation by Celsior solution in the isolated rat lung. *J Heart Lung Transplant*, 18(7): 684-92
192. Wittwer T; Grote M; Oppelt P; Franke U; Schafers HJ; and Wahlers T (2001) Impact of PAF antagonist BN 52021 (Ginkgolide B) on post-ischemic graft function in clinical lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 20(3): 358-63
193. Xiong L; Legagneux J; Wassef M; Oubenaissa A; Detruit H; Mouas C; and Menasche P (1999) Protective effects of Celsior in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 18(4): 320-7

194. Yamashita M; Schmid RA; Ando K; Cooper JD; and Patterson GA (1996) Nitroprusside ameliorates lung allograft reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*, 62(3): 791-6; discussion 796-7
195. Yamazaki F; Yokomise H; Keshavjee SH; Miyoshi S; Cardoso PF; Slutsky AS; and Patterson GA (1990) The superiority of an extracellular fluid solution over Euro-Collins' solution for pulmonary preservation. *Transplantation*, 49(4): 690-4
196. Yu WM; Coddington D; and Bitter-Suermann H (1990) Rat liver preservation. I. The components of UW solution that are essential to its success. *Transplantation*, 49(6): 1060-6

11. Anhang

11.1. Danksagung

Mein Dank gilt allen, die zum erfolgreichen Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Herrn Professor Dr. Wahlers möchte ich neben der Ermöglichung meiner wissenschaftlichen Arbeit an der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie der Universität Jena auch für die wohlwollende Unterstützung in der Begleitung meines Studiums danken. Besonders herzlicher Dank gilt Herrn PD Dr. med. habil. Thorsten Wittwer, dessen unermüdlicher Einsatz dieses Projekt überhaupt ermöglicht hat. Dies gilt sowohl für die Planung und Betreuung der experimentellen Phase als auch für engagierte Hilfe bei der Verfassung des Manuskriptes.

Für die Hilfe bei der Durchführung der Experimente danke ich dem Team des herzchirurgischen Labors im tierexperimentellen Institut der Universität Jena unter Leitung von Frau Sigrun Kirste mit ihren Mitarbeiterinnen Frau Simone Böhm und Frau Katrin Hornung. Herrn Dr. Schubert, Leiter des tierexperimentellen Institutes sowie seinen Mitarbeitern danke ich für die tatkräftige Unterstützung und nette Zusammenarbeit während der gesamten experimentellen Phase.

Herrn Dr. Vollandt des Institutes für Medizinische Statistik der Universität Jena danke ich für die konstruktive Beratung in allen statistischen Angelegenheiten.

Meiner Familie danke ich besonders für die Unterstützung und Motivation in den gesamten Jahren meines Studiums und vor allem während der Promotionszeit.

11.2. Lebenslauf

Pech, Thomas

geb. am 29.12.1975 in	Reutlingen
1982 - 1986	Grundschule (Hohbuchschule Reutlingen)
1986 - 1995	Johannes-Kepler-Gymnasium Reutlingen
1995	Abitur
07/1995 – 06/1996	Grundwehrdienst im Sanitätsdienst (Luftwaffe)
10/1996 – 05/2003	Friedrich-Schiller-Universität Jena: Medizinstudium
08/1998	Ärztliche Vorprüfung
08/1999	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
08/2001	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2003	3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
02/2002 – 07/2002	Praktisches Jahr (Innere Medizin und Chirurgie) Tulane University Medical School, New Orleans, USA
08/2002 – 09/2002	Praktisches Jahr (Chirurgie) Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie, FSU Jena
09/2002 – 12/2002	Praktisches Jahr (Anästhesie) Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, FSU Jena
06/2003 – 09/2004	Arzt im Praktikum Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie der Universität Bonn
Seit 10/2003	Assistenzarzt Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie der Universität Bonn
Jena, den 07.12.2004	Thomas Pech

11.3. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, daß mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Prof. Dr. med. Thorsten Wahlers und PD Dr. med. habil. Thorsten Wittwer,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und daß Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

daß ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

daß ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 07.12.2004

Thomas Pech

11.4 Publikationsverzeichnis

Teile der Dissertation wurden in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Fehrenbach A, Pufe T, Wittwer T, Nagib R, Dreyer N, Pech T, Petersen W, Fehrenbach H, Wahlers T, Richter J.

Reduced vascular endothelial growth factor correlates with alveolar epithelial damage after experimental ischemia and reperfusion.

J Heart Lung Transplant. 2003 Sep; 22(9): 967-78.